

Der Einfluss von Geschlechtshormonen auf die Hypertrophieantwort nach Druckbelastung im Myokard der Maus

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen



ANNE BITTIG

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2005

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2005

© 2005 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, WETTENBERG
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Martin Diener

und

dem Physiologischen Institut II der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Betreuer: Prof. Dr. Rainer Meyer

Der Einfluss von Geschlechtshormonen auf die Hypertrophieantwort nach Druckbelastung im Myokard der Maus

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Anne Bittig

Tierärztin aus Frankfurt

Gießen 2005

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

Gutachter: 1. Prof. Dr. M. Diener

2. Prof. Dr. R. Meyer

Tag der Disputation: 13.06.2005

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	13
1.1	Geschlechtsspezifische Unterschiede der Herzmorphologie und -funktion beim Menschen	13
1.2	Die Herzhypertrophie	15
1.3	Testosteron und seine kardiovaskulären Wirkungen.....	16
1.4	Östrogen und seine kardiovaskulären Wirkungen	17
1.5	Ziele dieser Arbeit	20
2	Material und Methoden.....	21
2.1	Versuchstiere und Haltungsbedingungen	21
2.2	Gruppeneinteilung und Versuchsprotokoll	21
2.3	In-vivo-Eingriffe	23
2.3.1	Anästhesie	23
2.3.2	Orchiektomie/Ovarektomie	24
2.3.3	Pellet-Implantation	25
2.3.4	Transverse aortale Konstriktion und Scheinoperation	25
2.3.5	Hämodynamik	28
2.3.6	Blutentnahme.....	31
2.3.7	Organentnahme	31
2.4	In-vitro-Bestimmungen.....	31
2.4.1	Organgewichte	31
2.4.2	Hormon-Serumspiegel	31
2.5	Histologische Verfahren.....	32
2.5.1	Fixierung des Herzgewebes	32
2.5.2	Paraffin-Einbettung	32
2.5.3	Schnitttechnik.....	32

2.5.4	Färbemethoden.....	32
2.5.4.1	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	32
2.5.4.2	Azan-Färbung nach Heidenhain	33
2.6	Geräte und Materialien	34
2.6.1	Materialien für die Tierhaltung	34
2.6.2	Geräte und Materialien für die In-vivo-Eingriffe	34
2.6.2.1	Geräte	34
2.6.2.2	Verbrauchsmaterialien	35
2.6.3	Geräte und Materialien für die In-vitro-Bestimmungen	35
2.6.4	Geräte, Materialien und Chemikalien für die histologischen Untersuchungen.....	36
2.6.4.1	Geräte und Materialien	36
2.6.4.2	Chemikalien	36
2.7	Statistik	38
3	Ergebnisse.....	39
3.1	Tierzahlen	39
3.2	Akute Auswirkungen der transversen aortalen Konstriktion	39
3.3	Chronische Auswirkungen der transversen aortalen Konstriktion, 14 Tage nach TAC.....	42
3.3.1	Veränderung des Körpergewichtes.....	42
3.3.2	Morphologische Veränderungen der Organe	43
3.3.2.1	Gewichtszunahme von Herz und Lunge	43
3.3.2.2	Histologische Veränderungen am Herzen	44
3.3.3	Hämodynamik	47
3.3.3.1	Peripherer Blutdruck	47
3.3.3.2	Herzfrequenz und linksventrikulärer Druck	48
3.3.3.3	Maximale Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit	50
3.4	Hormon-Serumspiegel	51

3.5	Ergebnisse der einzelnen Tiergruppen im Vergleich	52
3.5.1	Gruppen 1 und 2: männliche und weibliche Tiere	52
3.5.1.1	Mortalitätsrate	52
3.5.1.2	Körpergewicht und Morphologie der Organe	52
3.5.1.3	Hämodynamik	57
3.5.2	Gruppen 1, 3 und 4: männliche Tiere, orchiektomierte und orchiektomierte mit Testosteron-Übersubstitution	62
3.5.2.1	Mortalitätsrate	62
3.5.2.2	Körpergewicht und Morphologie der Organe	62
3.5.2.3	Hämodynamik	67
3.5.3	Gruppen 1, 3, 5 und 6: männliche Tiere, orchiektomierte, männliche mit Cyproteronacetat-Applikation und männliche mit Flutamid-Applikation	73
3.5.3.1	Mortalitätsrate	73
3.5.3.2	Körpergewicht und Morphologie der Organe	73
3.5.3.3	Hämodynamik	76
3.5.4	Gruppen 2, 7 und 8: weibliche Tiere, ovariectomierte und ovar- ectomierte mit Östrogen-Übersubstitution	84
3.5.4.1	Mortalitätsrate	84
3.5.4.2	Körpergewicht und Morphologie der Organe	84
3.5.4.3	Hämodynamik	86
4	Diskussion	92
4.1	Pathophysiologie des Herzens nach Aortenkonstriktion.....	92
4.1.1	Akute Beeinflussung der kardialen Funktion nach transverser aortaler Konstriktion	92
4.1.2	Chronische Auswirkungen der TAC.....	94
4.1.2.1	Mortalität	94
4.1.2.2	Herzmorphologie und Hämodynamik.....	94
4.2	Die geschlechtsspezifische Entwicklung der Druckbelastungs- Hypertrophie nach Aortenkonstriktion.....	97

4.3	Der Einfluss von Testosteron auf die Entwicklung einer Druckbelastungs-Hypertrophie	100
4.3.1	Beeinflussung der Herz- und Lungenmorphologie	100
4.3.2	Beeinflussung der Herzfunktion	102
4.4	Der Einfluss der Androgenrezeptor-Antagonisten Cyproteron-acetat und Flutamid auf die Entwicklung einer Druckbelastungs-Hypertrophie	104
4.4.1	Veränderungen nach Cyproteronacetat-Gabe.....	104
4.4.2	Veränderungen nach Flutamid-Gabe.....	105
4.5	Der Einfluss von Östrogen auf die Entwicklung einer Druckbelastungs-Hypertrophie.....	107
4.5.1	Beeinflussung der Herz- und Lungenmorphologie	107
4.5.2	Beeinflussung der Herzfunktion	109
4.6	Abschließende Betrachtung.....	110
5	Zusammenfassung	111
6	Summary.....	113
7	Tabellenanhang.....	115
8	Danksagung	127
9	Erklärung	128

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie (Arteria)
AAS	anabolische androgene Steroide
Abb.	Abbildung
AR	Androgenrezeptor
Aqua bidest	Aqua bidestillata = doppelt destilliertes Wasser
Aqua dest.	destilliertes Wasser
BERKO-Mäuse	Östrogenrezeptor- β -defiziente Mäuse
b/min	Schläge pro Minute
BMI	body mass index
BP	Blutdruck
BW	Körpergewicht
°C	Grad Celsius
C57BL/6-Maus	Labormaus-Inzuchtlinie
cm	Zentimeter
d	Tag
DAP	diastolischer arterieller Blutdruck
DePeX	Medium zum Einbetten der Objektträger-Präparate
d. h.	das heißt
+Dp/dt _{max}	maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (Kontraktionsgeschwindigkeit)
-Dp/dt _{min}	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (Relaxationsgeschwindigkeit)
ERKO-Mäuse	Östrogenrezeptor- α -defiziente Mäuse
et al.	et alii
Fa.	Firma
FVB-Mäuse	Labormaus-Inzuchtlinie
Fr. (French)	Maßeinheit für die Dicke von Kathetern: 1 French (Fr.) = 1 Charrière (Ch.) entspricht einem äußeren Durchmesser von 0,33 mm
g	Gramm

Abkürzungsverzeichnis

G (Gauge)	Maßeinheit für Durchmesser von Kanülen; 27 G = 0,4 mm
GCA-KO	Natriuretisches-Peptid-Rezeptor-Knockout-Mäuse
HR	Herzfrequenz
HW	Herzgewicht
I.U.	internationale Einheiten
Knockout-Mäuse	gendefiziente Mäuse
LH	Luteinisierendes Hormon
l/min	Liter pro Minute
Lsg.	Lösung
LV	linker Ventrikel (Herz)
LVDP	linksventrikulärer diastolischer Druck
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVEDV	linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVSP	linksventrikulärer systolischer Druck
LVW	Gewicht des linken Ventrikels (Herz)
LW	Gewicht der Lunge
MABP	mittlerer arterieller Blutdruck
max.	maximal
MI	Myokardinfarkt
min	Minute
mind.	mindestens
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Einheit für Druck; 1 mmHg = 133,3 Pa (Pascal)
MW	Mittelwert
n	Anzahl
ng	Nanogramm
n. s.	nicht signifikant
OP	Operation

Abkürzungsverzeichnis

p	Irrtumswahrscheinlichkeit/Signifikanz
PBS	phosphat buffered saline
pg	Pikogramm
pH-Wert	potentia Hydrogenii - „Stärke des Wasserstoffs“ (negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration)
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RIA	Radioimmunassay
SAP	systolischer arterieller Blutdruck
s. c.	subkutan
SD	Standardabweichung
sec	Sekunde
SHBG	steroidhormonbindendes Globulin
SHHF-Ratten	spontan hypertensive Herzversagen-Ratten
SH-Ratten	spontan hypertensive Ratten
Tab.	Tabelle
TAC	transverse aortale Konstriktion
TGR(mREN2)27-Mäuse	Knockout-Mäuse mit überaktivem RAAS
TL	Tibiallänge
U/min	Drehungen pro Minute
USP	Einheit für Fadenstärke
UW	Uterusgewicht
Vol.-%	Volumenprozent
vs.	versus
WKY-Ratten	Wistar-Kyoto-Ratten

1 Einleitung

1.1 Geschlechtsspezifische Unterschiede der Herzmorphologie und -funktion beim Menschen

Die Herzen von Männern und Frauen sind unterschiedlich. Schon unter physiologischen Bedingungen zeigen sich morphologische Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern. Echokardiografische Untersuchungen konnten zeigen, dass erwachsene Männer in allen Altersklassen etwa 25 - 38% mehr linksventrikuläre Masse besitzen als Frauen im gleichen Alter. Auch nach Berücksichtigung von Körpergröße bzw. -gewicht bleiben signifikante Unterschiede bestehen. Interessanterweise unterscheidet sich die Masse des linken Ventrikels vor der Pubertät zwischen Mädchen und Jungen kaum (de Simone et al., 1995).

Nach Studien von Dannenberg und Kollegen ist bei erwachsenen Frauen physiologischerweise ein altersabhängiges, stetiges Wachstum des linken Ventrikels zu beobachten, wohingegen dieser Wert bei Männern konstant bleibt (Dannenberg et al., 1989). Andere Studien, welche auf autoptischen Untersuchungen beruhen, zeigen aber eine stetige Abnahme der linksventrikulären Masse bei Männern und ein Konstantbleiben dieser bei Frauen. Zahl und Volumen der Kardiomyozyten bleiben bei Frauen im Alter stabil, während bei Männern eine auffallende Verringerung der Myozytenzahl und eine Volumenzunahme der Zellen festzustellen ist (Olivetti et al., 1995).

In diesem Zusammenhang ist interessant, dass sich der Hormonstatus bei Männern und Frauen mit zunehmendem Alter stark verändert. Bei Frauen ist nach der Menopause ein drastischer Abfall der Östrogenkonzentration im Körper zu beobachten. Gleichzeitig nimmt die ovarielle Testosteronproduktion zu (Laughlin et al., 2000, Sluijmer et al., 1995). Bei Männern verringert sich der Testosteronspiegel mit zunehmendem Alter stetig (Hayward et al., 2001).

Auch bei pathologischen Prozessen im Herzen zeigen sich geschlechtsspezifische Unterschiede. Männer haben eine verstärkte Prädisposition für kardiovaskuläre Erkrankungen im Vergleich zu gleichaltrigen, prämenopausalen Frauen. Nach der Menopause existiert dieser geschlechtsspezifische Unterschied jedoch nicht mehr (Hayward et al., 2000). Erkrankungen mit Druckbelastung des Herzens führen zur kompensatorischen Zunahme der linksventrikulären Masse, wobei die Formen der

Adaption bei Frauen und Männern unterschiedlich sind. Bei gleichem Grad der Aortenstenose zeigen Frauen eine bessere systolische Funktion des Herzmuskels, eine ausgeprägtere konzentrische Hypertrophie sowie einen geringeren enddiastolischen Ventrikeldurchmesser (Aurigemma et al., 1995, Carroll et al., 1992). Villari und Kollegen fanden nach chronischer Druckbelastung des Herzens bei Männern eine schlechtere systolische und diastolische Funktion sowie eine vermehrte endokardiale Fibrose (Villari et al., 1995).

Bei Patienten mit isolierter systolischer Hypertension konnten von Krumholz und Kollegen interessante geschlechtsspezifische Unterschiede in der Entwicklung einer Herzhypertrophie beobachtet werden. Obwohl der Grad der Zunahme der linksventrikulären Masse bei beiden Geschlechtern gleich ist, unterscheiden sie sich in der Morphologie. Frauen zeigen eine Zunahme der linksventrikulären Wanddicke ohne Ventrikeldilatation, bei Männern hingegen bleibt die Wanddicke gleich und der Ventrikeldurchmesser vergrößert sich (Krumholz et al., 1993).

Generell ist die linksventrikuläre Hypertrophie mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert (de Simone et al., 2001, Haider et al., 1998). Es ist eine lineare Relation zwischen der Zunahme der linksventrikulären Masse bei essenzieller Hypertonie und dem Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen zu erkennen. Im Vergleich beider Geschlechter ist der unabhängige prognostische Faktor linksventrikuläre Hypertrophie bei Frauen mit einer höheren Mortalität assoziiert (Schillaci et al., 2000).

Es liegen also deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen des Herzens vor. Diese sind vor allem in der altersabhängigen ventrikulären Umbildung sowie bei Adaptionsvorgängen nach pathologischer Druckbelastung zu finden. Die beschriebenen Vorgänge führen zu der Annahme, dass Sexualhormone eine wichtige Rolle in Rahmen dieser Prozesse spielen.

1.2 Die Herzhypertrophie

Die Herzhypertrophie entsteht als Reaktion auf eine chronische Mehrbelastung des Herzens durch mechanische, hämodynamische, hormonelle oder pathologische Stimuli und ist durch Vermehrung der kardialen Muskelmasse gekennzeichnet. Als pathologische Ursachen der linksventrikulären Hypertrophie kommen Erkrankungen wie Hypertonie, Herzklappenerkrankungen, Aortenstenose und ischämische Herzerkrankungen infrage.

Die Herzhypertrophie erfolgt, wie eine Trainingshypertrophie des Skelettmuskels, langsam und zeigt dabei eine klare Abhängigkeit von Art und Ort der Belastung. Druckbelastete Herzkammern vermehren ihre Muskelmasse konzentrisch, d. h. in Form einer Wandverdickung bei weitgehend konstantem Blutvolumen der Kammern (Druckbelastungshypertrophie). Bei einer Volumenbelastung dagegen geht die Muskelmassenvermehrung mit einer Vergrößerung des Kammervolumens einher, der Ventrikel hypertrophiert exzentrisch (Volumenbelastungshypertrophie).

Auf zellulärer Ebene ist zu erkennen, dass der Zunahme der Muskelmasse des Herzens eine zelluläre Hypertrophie zugrunde liegt. Dabei zeichnen sich druckbelastete Herzen vor allem durch eine Vermehrung des Durchmessers der einzelnen Kardiomyozyten aus, volumenbelastete Herzen dagegen vergrößern sich eher harmonisch und nehmen im Durchmesser und in der Länge zu (Hunter et al., 1999).

Die Vermehrung der Muskelmasse beim druckbelasteten Herzen dient dazu, den erhöhten Druck durch Zunahme der Kammerwanddicke zu kompensieren und so die myokardiale Wandspannung, d. h. die Belastung der Herzmuskelfasern, im Normbereich zu halten (kompensierte Druckhypertrophie).

Auch funktionelle Veränderungen des Herzens sind bei chronischer Druckbelastung zu erkennen. Durch die vermehrte Muskelmasse haben die Myokardzellen eine hohe Spannungsentwicklungsfähigkeit bei allerdings reduzierter maximaler Erschlaffungsgeschwindigkeit. Eine Ursache für eine Verminderung der Relaxationsfähigkeit ist die Entwicklung einer Myokardfibrose im druckbelasteten Herzen.

Bei höhergradiger pathologischer Hypertrophie kommt es zur zunehmenden kontraktile Funktionseinbuße. Hieran sind biochemische und strukturelle Veränderungen beteiligt. Bei fortschreitender Einschränkung der Herzleistung, d. h.

sich manifestierender Herzinsuffizienz, beobachtet man unabhängig von der primären Belastungsform charakteristische Veränderungen der Ventrikelgeometrie, die als Dilatation bezeichnet werden. Diese ist durch eine starke Zunahme des Ventrikeldurchmessers bei Stagnation oder Abnahme der Wandstärke gekennzeichnet. Kommt es schließlich zum Einmünden in einen Circulus vitiosus, ist das Herz nicht mehr in der Lage, die höhergradigen diastolischen Füllungsdrücke wegen der abnehmenden Auswurfleistung zu bewältigen. Es kommt zum Rückwärts- und Vorwärtsversagen des Herzens mit allen klinischen Folgen (Hierholzer et al., 1991).

1.3 Testosteron und seine kardiovaskulären Wirkungen

Testosteron ist das vorwiegende zirkulierende Androgen beim Mann und wird hauptsächlich in den Leydigischen Zwischenzellen der männlichen Gonaden gebildet. Ein geringer Anteil wird auch in Nebennieren und weiblichem Ovar synthetisiert. Die tägliche Testosteronproduktion beträgt beim Mann etwa 7 mg, bei Frauen etwa 10 % davon. Testosteron ist im Blut zu 98 % an ein Transportprotein gebunden (steroidhormonbindendes Globulin: SHBG), bei Frauen zu 99 %. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 10 - 20 Minuten. Die Serumkonzentration bei Männern beträgt 3 - 10 µg/l (Forth et al., 1998). Bei männlichen adulten C57BL/6 Mäusen liegen die Serumlevel unter physiologischen Bedingungen bei etwa 1,12 - 1,17 ng/ml (Nelson et al., 1975). Der Abbau des Testosterons findet vorwiegend in der Leber statt, ein geringer Anteil wird zu Östrogenen aromatisiert. Die Ausscheidung der Metaboliten erfolgt über die Nieren.

Neben den sexualspezifischen hat Testosteron auch einige sexualunspezifische Wirkungen im Körper. Die wichtigste davon ist die proteinanabole Wirkung.

Die Wirkung von Androgenen wird über intrazelluläre Androgenrezeptoren (AR) vermittelt. Diese gehören zur Familie der Steroidrezeptoren. Testosteron und einige seiner Metaboliten (vor allem Dihydrotestosteron, DHT, als biologisch wirksamstes Androgen) sind die physiologischen Liganden mit der höchsten Affinität für den AR, an den sie nach Diffusion in die Zelle binden. Der Rezeptor-Liganden-Komplex transloziert in den Zellkern und bindet als Dimer an einem androgenresponsiblen Element in den Promotorsequenzen seiner Zielgene. Dies führt zu gesteigerter oder verminderter Expression dieser Gene. Die zellspezifische Expression von AR sowie

von einem Koaktivator- und einem Korepressor-Protein bestimmen die durch Testosteron hervorgerufenen physiologischen Wirkungen im Gewebe.

Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass Herzgewebe funktionell aktive AR enthält, was die Voraussetzung für kardiale Wirkungen von Androgenen ist (Lin et al., 1985, Lin et al., 1990, McGill, Jr. et al., 1980, McGill, Jr., 1989). Diese auf autoradiographischen und biochemischen Experimenten beruhenden Feststellungen wurden durch den Nachweis von Androgenrezeptor-mRNA in Herzmuskelzellen beider Geschlechter verschiedener Spezies bestätigt (Marsh et al., 1998). Weiterhin wurde von den gleichen Autoren nachgewiesen, dass Testosteron zur rezeptorspezifischen Hypertrophie von isolierten Ratten-Kardiomyozyten führt. Eine andere Arbeitsgruppe konnte ebenfalls zeigen, dass der herzspezifische Androgenmetabolismus eine wichtige Rolle bei kardialer Hypertrophie spielt (Thum et al., 2002).

Testosteron ist auch an der Blutdruckregulation beteiligt. Einige Autoren haben beobachtet, dass durch Androgenrezeptor-Blockade bei SH-Ratten der mittlere arterielle Blutdruck gesenkt wird. Außerdem wird durch Testosteroninfusion bei männlichen und weiblichen Tieren der Blutdruck erhöht. Es konnte gezeigt werden, dass das Renin-Angiotensin-System eine wichtige Rolle bei der androgenvermittelten Blutdruckveränderung spielt (Reckelhoff, 2001).

Es werden in der Literatur auch nicht genomische Wirkungen von Testosteron auf das kardiovaskuläre System beschrieben. Einige Autoren haben über direkte vaskuläre Relaxation nach Testosterongabe berichtet, und zwar durch endothelabhängige (NO-Freisetzung) und endothelunabhängige Mechanismen, welche geschlechts- und rezeptorunabhängig sind (Costarella et al., 1996). Andere Studien zeigen wiederum eine Zunahme des vaskulären Widerstands durch Testosteron (Ceballos et al., 1999).

1.4 Östrogen und seine kardiovaskulären Wirkungen

Östrogene gehören wie Gestagene und Androgene zu den Steroidhormonen. Sie werden hauptsächlich in Ovar und Plazenta gebildet, in geringer Menge aber auch in Nebenniere und männlichen Hoden. Sie können auch durch Aromatisierung von Androgenen im Fettgewebe entstehen. Zwischenstufen in der Biosynthese der Östrogene sind Testosteron und Androstendion. Das wirksamste natürlich vorkommende und hauptsächlich zirkulierende Östrogen ist 17 β -Östradiol (E₂). Das

natürlich vorkommende Östron (E_1) besitzt nur 1/3, Östriol (E_3) nur ca. 1/10 der biologischen Aktivität des Östradiols. Die tägliche Sekretionsrate von 17β -Östradiol beträgt bei der Frau je nach Zyklusphase 50 - 70 μg . Frauen in der Postmenopause produzieren 5 - 10 μg / Tag. Der Serumspiegel von 17β -Östradiol liegt bei Frauen präovulatorisch bei 250 - 500 pg/ml, bei postmenopausalen Frauen im Bereich von < 20 pg/ml (Gruber et al., 2002). Bei weiblichen adulten C57BL/6-Mäusen beträgt der Serumspiegel unter physiologischen Bedingungen je nach Zyklusphase etwa 45 - 70 pg/ml (Fata et al., 2001). Östrogene werden im Blut vorwiegend an SHBG, aber auch an Albumin gebunden transportiert. Die Halbwertszeit von Östron beträgt etwa 90 Minuten. In der Leber werden die Östrogene metabolisch inaktiviert. Die Metaboliten werden über die Galle und den Harn ausgeschieden (Forth et al., 1998).

Neben den sexualspezifischen haben Östrogene auch eine Reihe von sexualunspezifischen Wirkungen im Körper. Die Wirkungen von Östrogenen werden wie bei den Androgenen über intrazelluläre Steroidhormon-Rezeptoren vermittelt. Es sind zwei Subtypen von Östrogenrezeptoren bekannt, welche sich strukturell und funktionell unterscheiden: Östrogenrezeptor α und β . Es konnte von Grohé und Kollegen gezeigt werden, dass neonatale Kardiomyozyten und Fibroblasten von weiblichen und männlichen Ratten beide Isoformen funktionell aktiver Östrogenrezeptoren enthalten, wodurch kardiale genomische Wirkungen von Östrogenen möglich sind (Grohé et al., 1997). Der Nachweis, dass auch adulte Kardiomyozyten Östrogenrezeptoren exprimieren, wurde von der gleichen Arbeitsgruppe erbracht. Untersucht wurden atriale Kardiomyozyten von Frauen sowie ventrikuläre Kardiomyozyten von weiblichen Meerschweinchen und Ratten (Meyer et al., 1998). Von einer anderen Arbeitsgruppe wurden Östrogenrezeptor-Transskripte in adulten Kardiomyozyten und linksventrikulärem Herzgewebe von männlichen und weiblichen Ratten nachgewiesen (Weinberg et al., 1999).

Die Wirkungen von Östrogen auf das kardiovaskuläre System wurden schon vielfältig untersucht. Dubey und Kollegen konnten nachweisen, dass 17β -Östradiol das Wachstum von kardialen Fibroblasten hemmt, also antiproliferativ wirkt (Dubey et al., 1998). In einer kürzlich veröffentlichten Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass 17β -Östradiol über einen receptorspezifischen Signalweg die Phenylephrin-induzierte Hypertrophie in neonatalen Ratten-Kardiomyozyten antagonisiert (Babiker et al.,

2004a). Van Eickels und Kollegen zeigten, dass Östrogen die Ausprägung einer Druckbelastungs-Hypertrophie bei Mäusen verringert (van Eickels et al., 2001).

Im Rahmen einer Hormonersatztherapie-Studie bei postmenopausalen Frauen wurde festgestellt, dass nach mehr als zehnjähriger Behandlung ein signifikant niedrigeres Herzgewicht vorhanden ist als bei gleichaltrigen nicht behandelten Frauen (Lim et al., 1999). Auch eine vasodilatierende Wirkung von Östrogen ist bekannt (Mendelsohn et al., 1999).

1.5 Ziele dieser Arbeit

Zahlreiche Studien belegen geschlechtsspezifische Unterschiede bei physiologischen und pathophysiologischen Umbildungsprozessen des Herzens. Es wird deshalb angenommen, dass Sexualhormone eine wichtige Rolle bei diesen Vorgängen spielen.

In der vorliegenden Arbeit sollen die morphologischen und funktionellen Veränderungen des Mausherzens mit und ohne Druckbelastung bei unterschiedlichem Hormonstatus des Gesamtorganismus untersucht werden.

Nach Darstellung der generellen akuten und chronischen Auswirkungen einer transversen aortalen Konstriktion (TAC) auf die Herzmorphologie und -funktion sollen zunächst intakte weibliche und männliche C57BL/6-Mäuse mit und ohne Druckbelastung miteinander verglichen werden. Im Anschluss daran sollen die Beeinflussung der beschriebenen Prozesse durch Testosteronentzug bzw. -Übersubstitution untersucht und schließlich die Veränderungen nach Androgenrezeptor-Blockade mittels steroidaler und nichtsteroidaler Antagonisten erfasst werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen sollen zur Klärung der Rolle von Androgenen bei der Entstehung und Progression der Herzhypertrophie im Gesamtorganismus beitragen und somit helfen, das kardiale Nutzen-Risiko-Profil dieser Hormone zu definieren, da die medikamentelle Verabreichung von Androgenen bei verschiedensten Indikationen Anwendung findet.

Im letzten Teil der Arbeit sollen die Wirkungen von Östrogenentzug bzw. -Übersubstitution auf die morphologischen und funktionellen Veränderungen des Herzens mit und ohne Druckbelastung untersucht werden, um die Rolle von Östrogenen bei den beschriebenen Vorgängen zu definieren. Auch dies ist von klinischem Interesse, da z. B. Hormonersatztherapien bei postmenopausalen Frauen kontrovers diskutiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Als Versuchstiere wurden weibliche und männliche Mäuse der Inzuchtlinie C57BL/6 (seit 1921 etablierte Labormaus-Linie) aus der institutseigenen Zucht verwendet. Die ersten Zuchtpärchen wurden von Charles River Deutschland erworben. Die Aufzucht und Haltung der Tiere erfolgte entsprechend artgerechter, gesundheitlicher und qualitativer Kriterien in transparenten, 365 x 207 x 140 mm (Länge x Breite x Höhe) großen Polycarbonat-Käfigen. Die Tiere wurden bei einer Raumtemperatur von 20 - 22°C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 % und einem 12-Stunden-Tag-Nacht-Zyklus gehalten. Als Einstreu wurde Altromin-Tiereinstreu-Granulat verwendet. Futter (Altromin Standarddiät Maus und Ratte) und Wasser standen *ad libitum* zur Verfügung. Im Alter von 4 Wochen wurden die Mäuse abgesetzt, nach Geschlechtern getrennt und in Gruppen von jeweils 5 Tieren pro Käfig unter den beschriebenen Haltungsbedingungen aufgezogen.

2.2 Gruppeneinteilung und Versuchsprotokoll

Zum Zeitpunkt eines operativen Eingriffs waren die männlichen Tiere (Gruppe m) ca. 12 Wochen alt und die weiblichen Tiere ca. 15 Wochen (Gruppe w). Die körperliche Entwicklung schreitet bei männlichen Jungmäusen schneller fort. Aus diesem Grund wurden die weiblichen Tiere zu einem etwas späteren Zeitpunkt operiert, zu welchem die Körpergewichte beider Geschlechter weitgehend gleich waren. Bei den restlichen der nachfolgend aufgeführten Gruppen, bei denen eine Voroperation der Tiere nötig war, wurde diese im Alter von ca. 10 Wochen durchgeführt.

Gruppe 1: männliche C57BL/6-Mäuse (m)

Gruppe 2: weibliche C57BL/6-Mäuse (w)

Gruppe 3: männliche orchiectomierte C57BL/6-Mäuse (mX)

Gruppe 4: männliche orchiectomierte C57BL/6-Mäuse mit
supraphysiologischer Testosteron-Gabe (mX+T)

Gruppe 5: männliche C57BL/6-Mäuse mit Cyproteronacetat-Applikation, eines
steroidalen Androgenrezeptor-Antagonisten (m+Cyp)

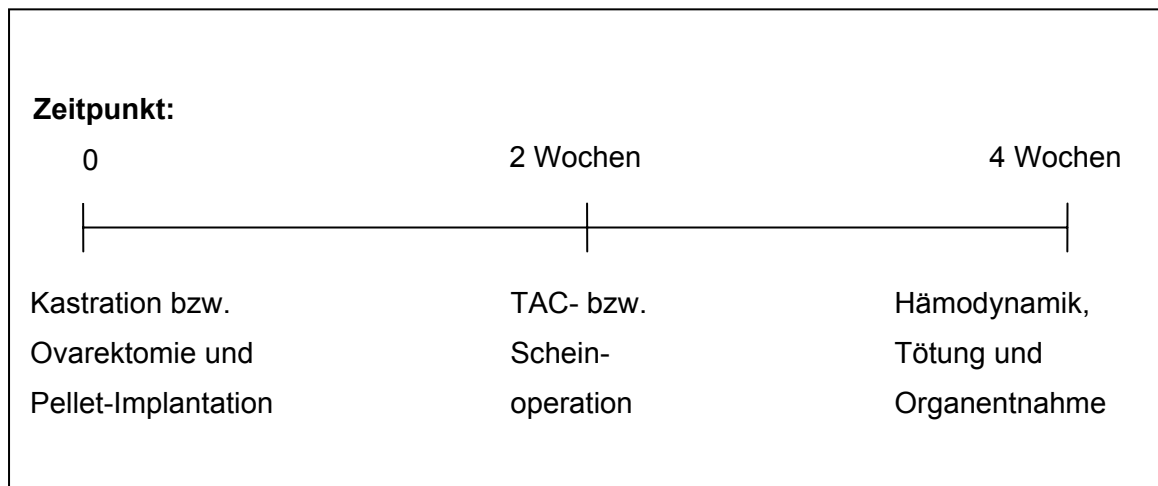
Material und Methoden

- Gruppe 6:** männliche C57BL/6-Mäuse mit Flutamid-Applikation, eines nichtsteroidalen Androgenrezeptor-Antagonisten (m+Flu)
- Gruppe 7:** weibliche ovariectomierte C57BL/6-Mäuse (wX)
- Gruppe 8:** weibliche ovariectomierte C57BL/6-Mäuse mit supraphysiologischer Östrogen-Gabe (wX+Ö)

Die pharmakologischen Applikationen erfolgen mittels Pellet-Implantation. Zwei Wochen nach der Vorbehandlung wurde bei der Hälfte der Tiere pro Gruppe ein operativer Eingriff zur Erzeugung einer Druckbelastung im Herzen durchgeführt (transverse aortale Konstriktion, TAC-Operation). Bei den restlichen 50 % wurde eine Scheinoperation durchgeführt. Zwei Wochen nach diesem Eingriff wurde bei allen Tieren eine hämodynamische Untersuchung durchgeführt.

Im Anschluss an die hämodynamische Untersuchung wurden die Tiere durch Blutentzug getötet und verschiedene Organe zur Analyse entnommen.

Das Behandlungsprotokoll wurde folgendermaßen durchgeführt:



Zur Erfassung der akuten Auswirkungen der TAC auf das kardiovaskuläre System wurde bei einer Maus exemplarisch die hämodynamische Untersuchung vor, während und nach der TAC durchgeführt.

2.3 *In-vivo-Eingriffe*

2.3.1 Anästhesie

Die Einleitung der Narkose erfolgte in einer Inhalationsbox mit 2 Vol.-% Isofluran und einem O₂-Frischgasfluss von 1 l/min. Im Anschluss daran wurde das Tier auf einem temperierten Operationstisch (42 °C) fixiert. Die Fortführung der Anästhesie erfolgte mit Hilfe eines Nasenkonus. Unter diesen Bedingungen wurden einige operative Eingriffe wie Kastration/Ovarektomie, Pellet-Implantation, Hämodynamik und Intubation durchgeführt.

Eine Intubation erfolgte nur für die TAC- bzw. Scheinoperation. Zu diesem Zweck erfolgte nach dem Rasieren und Desinfizieren (Bettaisodona - Lsg.) des Operationsgebietes unter stereomikroskopischer Sicht (ZEISS-Mikroskop, für alle Operationen verwendet) bei 6-facher Vergrößerung ein medianer Hautschnitt von submental bis auf Höhe des 3. Intercostalraumes. Die beiden subkutan liegenden Speicheldrüsenlappen wurden median stumpf getrennt und es wurde eine Intubationskanüle endotracheal unter Sichtkontrolle von außen eingeführt (siehe Abb. 2.1). Diese wurde an das Beatmungsgerät (MiniVent) angeschlossen und ein Atemzugvolumen von ca. 200 µl sowie eine Atemfrequenz von ca. 105 Atemzügen pro Minute eingestellt.

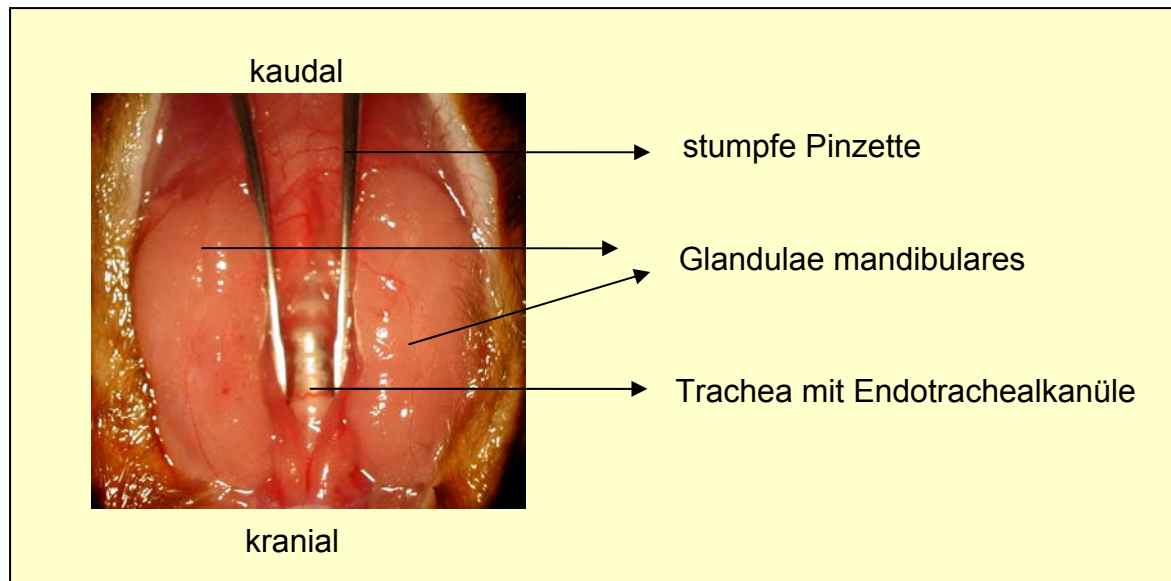


Abbildung 2.1: Intubationsmethode

Halsbereich der Maus, Ventralansicht nach Hautschnitt und Präparation der Trachea (6-fache Vergrößerung)

2.3.2 Orchiektomie/Ovarektomie

Das männliche Tier wurde nach Einleitung der Narkose in Rückenlage auf dem Operationstisch fixiert und mit Hilfe des Nasenkonus anästhesiert. Nach Rasur und Desinfektion im Bereich des Skrotums wurde zunächst auf einer Seite ein transversaler, ca. 0,5 cm langer Hautschnitt durchgeführt und der Hoden stumpf präpariert. Da eine bedeckte Kastration durchgeführt werden sollte, wurde der Processus vaginalis bei der Präparation nicht eröffnet. Samenleiter und Gefäße wurden mit einer Arterienklemme komprimiert. Danach wurde proximal der komprimierten Stelle mit einem Seidenfaden der Stärke 5-0 (USP) eine Ligatur gelegt. Der Hoden wurde abgetrennt und die Hautwunde blieb offen. Der zweite Hoden wurde auf die gleiche Weise entfernt.

Das weibliche Tier wurde in Bauchlage auf dem Operationstisch fixiert und mit Hilfe des Nasenkonus anästhesiert. Nach Vorbereitung des Operationsgebietes wurde unter stereomikroskopischer Sicht bei 6-facher Vergrößerung dorsolateral im lumbalen Bereich zunächst auf einer Seite ein ca. 0,4 cm langer Hautschnitt durchgeführt. Danach wurde die Bauchhöhle in diesem Bereich durch einen ca. 0,3 cm langen Schnitt eröffnet. Das Ovar befand sich direkt unter der Schnittöffnung.

und wurde vorsichtig aus der Bauchhöhle herausgezogen. Das Ligamentum ovario-
renale wurde stumpf durchtrennt und im Bereich des Oviduktes wurde eine Ligatur
mit einem Seidenfaden der Stärke 5-0 gelegt. Distal der Ligatur wurde der Rest des
Oviduktes mit dem Ovar abgetrennt. Die Bauchhöhle wurde mit einem monofilen
Faden der Stärke 6-0 mit einem Einzelheft verschlossen. Die Haut wurde mit einem
monofilen Faden der Stärke 7-0 mit zwei Einzelheften genäht. Das zweite Ovar
wurde auf die gleiche Weise entfernt.

2.3.3 Pellet-Implantation

Bei einigen Tieren wurden Slow-Release-Pellets der Größe 0,3 x 0,3 cm mit
verschiedenen Wirkstoffen (siehe Kapitel 2.6.2.2) subkutan im Bereich des Nackens
implantiert. Hierzu wurde das Tier nach Einleitung der Narkose in Bauchlage auf dem
OP-Tisch fixiert und durch den Nasenkonus anästhesiert. Nach Vorbereitung des
Operationsfeldes erfolgte ein ca. 0,6 cm langer Hautschnitt median im Lumbal-
bereich. Mit einer dünnen Pinzette wurde subkutan stumpf bis zum Nacken präpariert
und das Pellet in diesem Bereich platziert. Die beschriebene Lokalisation des
Hautschnittes wurde gewählt, um eine Platzierung des Hormonpellets direkt unter
der Hautnaht zu verhindern. Im Anschluss wurde die Haut mit einem Seidenfaden
der Stärke 6-0 mit zwei Einzelheften verschlossen.

2.3.4 Transverse aortale Konstriktion und Scheinoperation

Die transverse aortale Konstriktion (TAC) wurde durchgeführt, um eine
Druckbelastung im Herzen herbeizuführen. Als Methode wurde die von Rockman
beschriebene TAC-Operation gewählt und leicht modifiziert (Rockman et al., 1993).

Zunächst wurde das Tier nach Einleitung der Narkose in Rückenlage auf dem
Operationstisch fixiert und wie beschrieben intubiert (siehe Kapitel 2.3.1).

Unter stereomikroskopischer Sicht bei 10-facher Vergrößerung wurden nach
medianer Sternotomie bis zum 2. Intercostalraum zwei Retraktoren in die Wund-
ränder eingesetzt und die beiden Thymuslappen dargestellt. Diese wurden median
getrennt, jeweils nach lateral verschoben und mit den Retraktoren fixiert. Bei 16-
facher Vergrößerung wurden nun der Arcus aortae sowie der von diesem abgehende
Truncus brachiocephalicus und die Arteria carotis communis sinistra stumpf
präpariert.

Ein Seidenfaden der Stärke 5-0 wurde transversal um den Aortenbogen gelegt und zwei chirurgische Knoten wurden übereinander vorbereitet. Zwischen den ersten Knoten und Aorta wurde ein ca. 2 mm langes Stück einer 27-G (Gauge)-Nadel gelegt (siehe Abb. 2.2). Dann wurden beide Knoten nacheinander zugezogen und danach das Kanülenstück zügig entfernt. Mit Hilfe dieser Technik wurde der Durchmesser des Aortenbogens an der Konstriktionsstelle von ca. 1,2 mm auf 0,4 mm um 65 - 70% verringert (siehe Abb. 2.3).

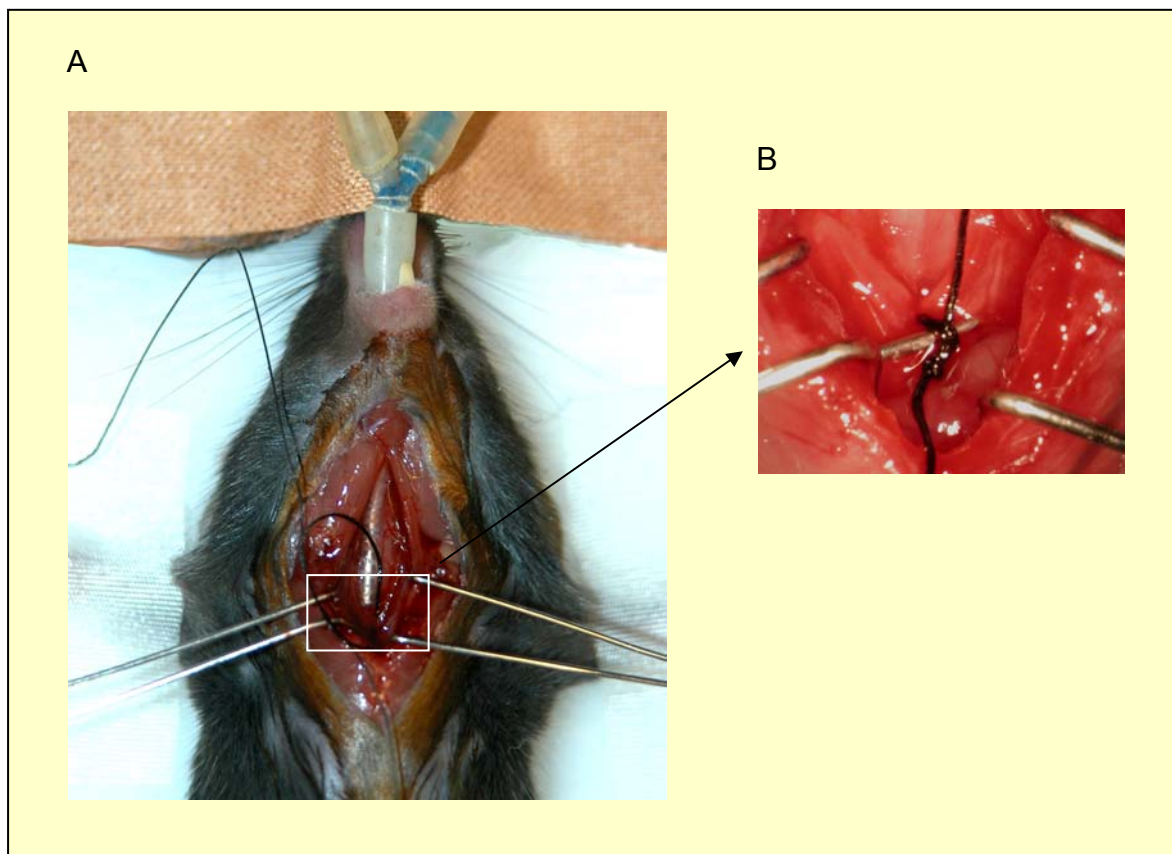


Abbildung 2.2: Operation zur transversen aortalen Konstriktion

A: Übersichtsaufnahme: Maus mit Endotrachealkanüle und eröffneter Thorax mit vorbereiteten Ligaturfäden

B: präparierter Aortenbogen, vorbereiteter chirurgischer Knoten und Konstriktionskanüle sichtbar, 16-fache Vergrößerung

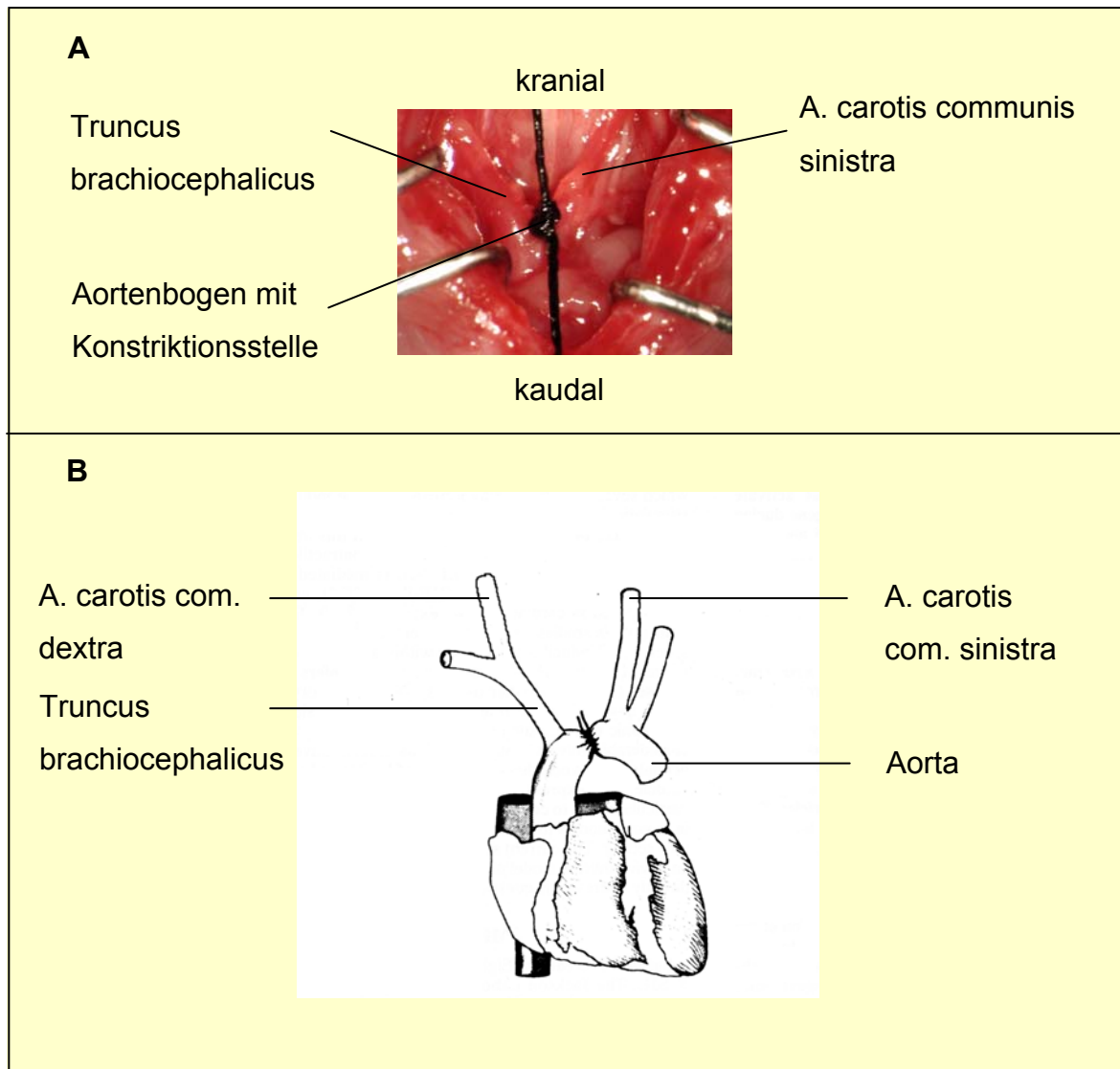


Abbildung 2.3: Anatomische Strukturen

A: Aortenbogen mit Abgängen von A. carotis sinistra und Truncus brachiocephalicus nach transverser aortaler Konstriktion (TAC), 16-fache Vergrößerung

B: Schema der TAC nach Rockman (Rockman et al., 1993)

Die Ligaturfäden wurden gekürzt, die Thymuslappen wieder über die Gefäße gelegt und der Thorax bei 10-facher Vergrößerung mit einem monofilen Faden der Stärke 6-0 durch mehrere Einzelheftnähte verschlossen. Hierbei wurde der entstandene Pneumothorax durch positiven endexpiratorischen Druck entleert.

Die Haut wurde bei 6-facher Vergrößerung mit einem monofilen Faden der Stärke 7-0 fortlaufend genäht und das Tier nach der Rückkehr einer regelmäßigen Spontanatmung extubiert. Unter einer Wärmelampe wurde die Maus bis zum vollständigen Erwachen aus der Narkose überwacht.

Bei der Scheinoperation wurde nach Präparation des Arcus aortae, des Truncus brachiocephalicus und der Arteria carotis communis sinistra kein Faden um den Aortenbogen gelegt, da keine Druckbelastung im Herzen herbeigeführt werden sollte. Die Thymuslappen wurden wieder über die Gefäße gelegt, der Thorax wurde verschlossen und die Operation, wie oben beschrieben, zu Ende geführt.

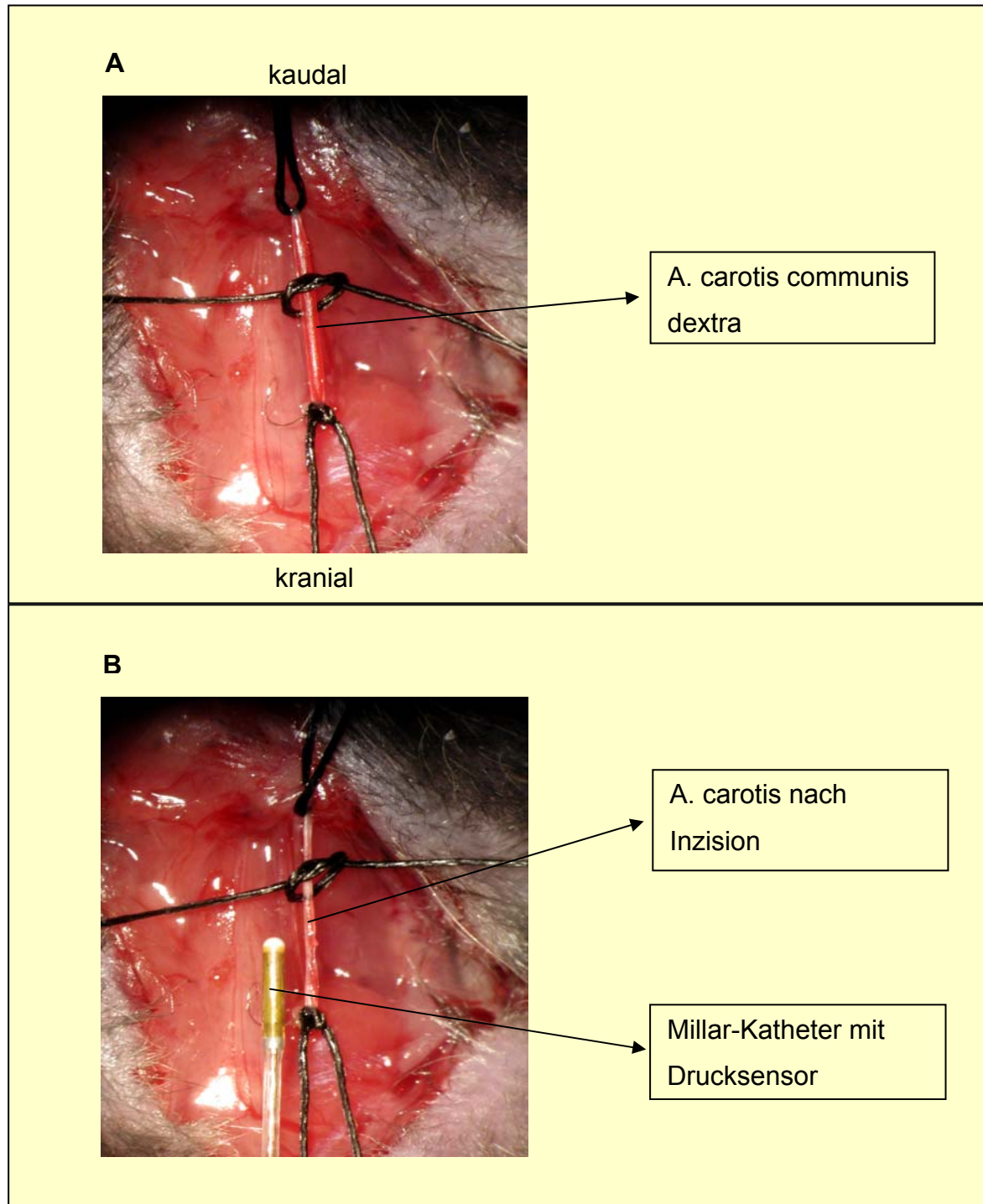
2.3.5 Hämodynamik

14 Tage nach der TAC-Operation wurde eine invasive Messung des Blutdruckes und der kardialen Funktion mit Hilfe eines 1,4-Fr. (French)-Millar-Katheters (siehe Kapitel 2.6.2.1) vorgenommen. Diese Messmethode bei geschlossenem Thorax wurde schon mehrfach beschrieben (Lorenz et al., 1997, Doevendans et al., 1998).

Zunächst wurde das Tier wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben anästhesiert und auf dem Operationstisch fixiert. Nach Vorbereitung des Operationsfeldes erfolgte ein Hautschnitt von submental bis prästernal. Nach Präparation der Arteria carotis communis dextra bei 6-facher Vergrößerung wurden drei Seidenfäden der Stärke 5-0 von jeweils 10 cm Länge um das Gefäß gelegt. Mit dem 1. Faden wurde das Gefäß im kranialen Bereich durch einen Knoten ligiert und durch Fixation des Fadens leicht gespannt. Der 2. Faden wurde in der Mitte zu einer lockeren Schlaufe gelegt. Mit dem 3. Faden wurde das Gefäß nach kaudal gespannt und so komprimiert (siehe Abb. 2.4, A).

Durch intraperitoneale Injektion wurden dem Tier anschließend 0,1 ml NaCl mit 1 I.U. Heparin verabreicht.

Nun wurde bei 10-facher Vergrößerung mit einer feinen Augenschere das Gefäß durch eine sehr kleine ventrale Inzision eröffnet. Der Millar-Katheter (Abb. 2.4, B) wurde eingeführt und durch Zuziehen der mittleren Fadenschlaufe fixiert. Danach wurde der kaudale Faden gelöst, um den Blutfluss wieder herzustellen. Der Katheter wurde bei geschlossenem Thorax bis in den Aortenbogen vorgeschoben (Abb. 2.4, C).



Durch Anschluss des Millar-Katheters an ein Power Lab Data Acquisition System (ADInstruments) und mit Hilfe der dazugehörigen Software erfolgte die Aufzeichnung und Auswertung der Daten. Die Messung des peripheren Blutdruckes (systolischer arterieller Blutdruck: SAP; diastolischer arterieller Blutdruck: DAP) erfolgte bei 1 % Isofluran und einem Frischgasfluss von 1 l/min. Danach wurde der Millar-Katheter

weiter vorgeschoben, bis der Sensor im linken Herzventrikel lag. Als Anhaltspunkt für das Erreichen des linken Ventrikels galt der dort akut abfallende diastolische Druckwert. Es wurden der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP), der linksventrikuläre diastolische Druck (LVDP) sowie die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit ($+Dp/dt_{\max}$) und die maximale Druckabfallgeschwindigkeit ($-Dp/dt_{\min}$) gemessen. Nach Aufzeichnung der Messparameter wurde der Millar-Katheter aus dem Gefäßsystem entfernt und eine abgestumpfte 26-G-Nadel mit 1-ml-Spritze zur Blutentnahme in die A. carotis eingeführt.

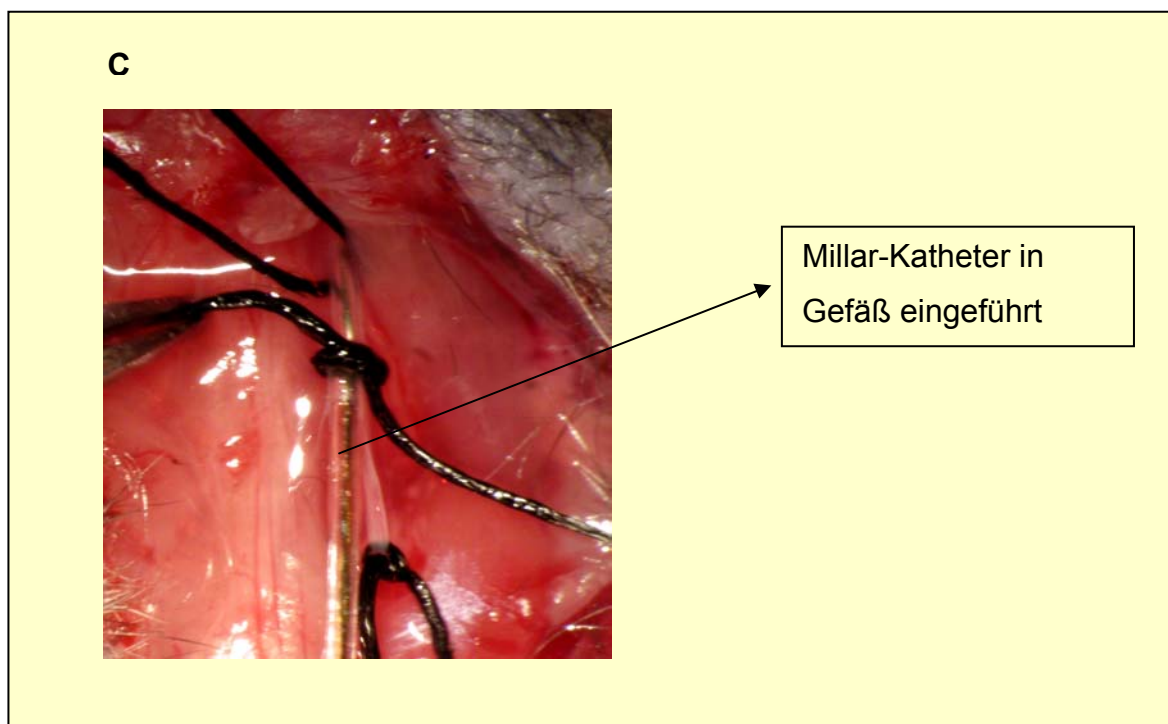


Abbildung 2.4, A - C: Hämodynamische Messung mit Hilfe eines Millar-Katheters

A: A. carotis communis dextra nach Präparation und Fixation mit Seidenfäden, 10-fache Vergrößerung

B: Gefäß nach Inzision und Millar-Katheter mit Drucksensor, 10-fache Vergrößerung

C: In die A. carotis eingeführter und vorgeschobener Katheter, 16-fache Vergrößerung

2.3.6 Blutentnahme

Etwa 1,5 ml Blut wurden aus der A. carotis communis dextra entnommen, was zum Tod des Tieres führte. Nach Zentrifugation der abgestandenen Blutprobe in einem 1,5-ml-Eppendorfgefäß für 10 min bei 4 °C und 3000 U/min wurde das überstehende Serum entnommen und für die Bestimmung der Hormon-Serumspiegel verwendet.

2.3.7 Organentnahme

Nach dem Tod des Tieres wurden folgende Organe zur Analyse entnommen:

- Herz
- Lunge
- Tibia
- Uterus bei weiblichen Tieren

2.4 *In-vitro*-Bestimmungen

2.4.1 Organgewichte

Nach Entnahme des Herzens wurde dieses zunächst in PBS (Pufferlösung) gewaschen und es wurden rechter und linker Ventrikel voneinander getrennt. Nach vorsichtigem Ausdrücken der Flüssigkeit auf Zellstoff wurde das Gewicht der Ventrikel einzeln auf einer Feinwaage bestimmt. Auch die Lunge wurde auf der Feinwaage gewogen und bei weiblichen Tieren wurde zusätzlich das Gewicht des Uterus bestimmt.

Herz und Lunge wurden anschließend in flüssigem Stickstoff schockgefroren und in Eppendorf-Gefäßen bei -80 °C gelagert.

Die Länge der Tibia wurde nach Präparation aus dem Tierkörper mit Hilfe einer Schieblehre bestimmt.

Bei einigen Tieren wurde das Herz für die Histologie verwendet (siehe Kapitel 2.5).

2.4.2 Hormon-Serumspiegel

Die Bestimmung der Hormon-Serumspiegel (Testosteron und 17 β -Östradiol) wurde mittels Radioimmunoassay (RIA) von der klinisch-chemischen Abteilung der Medizinischen Poliklinik der Universität Bonn vorgenommen.

2.5 Histologische Verfahren

2.5.1 Fixierung des Herzgewebes

Die für die Histologie entnommenen Herzen wurden zunächst 5 min mit EGTA-Lösung retrograd durch die Aorta perfundiert. Danach wurden sie 10 min mit 10%igem Formalin perfundiert und anschließend in 10%igem Formalin gelagert. Nach 24 h wurden die Herzen in Leitungswasser überführt und über 3 Tage fließend gewässert.

2.5.2 Paraffin-Einbettung

Nach der Entwässerung in einer aufsteigenden Ethanolreihe (30, 50, 60, 70 %) wurden die Herzen mit Hilfe eines Einbettautomaten (Tissue Tek Vip) über das Intermedium Methylbenzoat in Paraffin (Histowax) eingebettet und drei Tage später in frischem Paraffin eingeblockt.

2.5.3 Schnitttechnik

Mit einem Rotationsmikrotom (HM 355 S) wurden von den Paraplastblöckchen Serienschritte mit einer Dicke von 8 µm angefertigt. Diese wurden in einem handwarmen Wasserbad mit einem Pinsel gestreckt und danach auf einen beschichteten Objektträger (Super Frost Plus) aufgebracht. Nach Trocknung bei Raumtemperatur wurden die Objektträger in einen Wärmeschrank (60 °C) verbracht und dort ca. 5 Tage bis zur Färbung gelagert.

2.5.4 Färbemethoden

2.5.4.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Bei dieser Färbemethode werden Zellkerne blau und cytoplasmatische Bestandteile rosa bis rot gefärbt.

Nach der Entparaffinierung mit Xylol wurden die Objektträger in eine absteigende Alkoholreihe (Isopropanol 100, 90, 80 %) verbracht und anschließend fließend gewässert. Danach erfolgte die Kernfärbung 2 Minuten mit Hämatoxylin-Lösung und anschließend eine Spülung mit Leitungswasser. Nach einer kurzen Spülung mit Aqua dest. wurde die Plasmafärbung 2 Minuten mit 0,1%igem Eosin durchgeführt. Danach wurden die Objektträger erneut kurz mit Aqua dest. abgespült.

Nun erfolgte die Entwässerung mit einer aufsteigenden Alkoholreihe (Isopropanol 70, 80, 90, 100 %). Anschließend wurden die Schnitte mit Xylol behandelt und zum Schluss mit DePeX betropft und mit Deckgläsern versehen.

2.5.4.2 Azan-Färbung nach Heidenhain

Bei dieser Färbemethode wird kollagenes Bindegewebe scharf blau und Muskelgewebe rot bis violett gefärbt.

Nach Entparaffinierung, Alkoholreihe und Wässerung wie oben beschrieben, wurden die Schnitte 6 Minuten mit einer vorgewärmten Azokarminlösung gefärbt. Im Anschluss an das Abspülen mit Aqua dest. wurde 10 Minuten mit Anilinalkohol differenziert und danach 1 Minute mit Essigsäurealkohol behandelt. Die Präparate wurden nun 3 Stunden in 5%iger Phosphorwolframsäure gebeizt. Anschließend wurden die Schnitte mit Aqua dest. abgespült, um dann mit Anilinblau-Orange-G-Essigsäure 5 Minuten gefärbt zu werden. Nach Abspülen mit Aqua dest. erfolgten eine Differenzierung in 96%igem Isopropanol, eine Behandlung mit 100%igem Isopropanol und danach mit Xylol. Nach Betropfen mit DePeX wurden die Präparate eingedeckelt.

2.6 Geräte und Materialien

2.6.1 Materialien für die Tierhaltung

Zuchttiere

Charles River Deutschland GmbH, D-Sulzfeld

Käfige

Makrolon, Typ II L, Charles River Deutschland GmbH, D-Sulzfeld

Altromin-Tiereinstreu-Granulat und

Altromin-Standarddiät Maus und Ratte

Altromin GmbH und Co. KG, D-Lage-Lippe

2.6.2 Geräte und Materialien für die In-vivo-Eingriffe

2.6.2.1 Geräte

Endotrachealkanüle

Durchmesser 1,0 mm; Hugo Sachs Elektronik, D-March-Hugstetten

Millar-Katheter-System

- Mikro-Tip Pressure Katheter aus Nylon mit 1,4-French-Drucksensor;

Millar Instruments Inc., Houston, USA

- Datenverarbeitung durch Power Lab Data Acquisition System; ADInstruments,

Castle Hill, Australien; dazugehörige Software: Chart4windows

Minivent

Typ 845; Hugo Sachs Elektronik, D-March-Hugstetten

Operationsbesteck

Verschiedene Scheren, Pinzetten, Klemmen, Wund-Retraktoren, ein Nadelhalter;

Fine Science Tools, Inc., San Francisco, USA

Operationsmikroskop

OpMi-191294, ZEISS, D-Oberkochen

OP-Tisch

Eigenanfertigung der Feinmechanischen Werkstatt des Physiologischen Instituts mit
angeschlossenem Wärmebad (42 °C); Rhema-Labortechnik, D-Hofheim

Zentrifuge

Model 5415R; Eppendorf AG, D-Hamburg

2.6.2.2 Verbrauchsmaterialien

Betaisodona Lösung®

Mundipharma GmbH, D-Limburg

Hormonpellets

Alle Hormonpellets wurden von Innovative Research of America, Sarasota, USA bezogen. Es handelte sich dabei um so genannte Slow-Release-Pellets, welche den jeweiligen Wirkstoff konstant über eine bestimmte Zeit abgeben:

Wirkstoffname	Tiergruppe	Wirkstoffmenge pro Pellet	Abgabezeitraum	Dosis (mg/kg/d)
Testosteron	Gruppe mX+T	15 mg	90 Tage	6,7
Cyproteronacetat	Gruppe m+Cyp	25 mg	60 Tage	16,7
Flutamid	Gruppe m+Flu	10 mg	60 Tage	6,7
17β-Östradiol	Gruppe wX+Ö	0,36 mg	60 Tage	0,24

Die Wahl der jeweiligen Dosierungen richtete sich nach Literaturangaben, welche im Kapitel Diskussion beschrieben werden.

Isofluran: Forene®

Abbott GmbH & Co. KG, D-Wiesbaden

Nahtmaterial

- Prolene-Fäden (monofil) mit atraumatischer Nadel; Johnson&Johnson, Brüssel, Belgien
- Seidenfäden; Fa. Serag Wiessner, D-Naila

2.6.3 Geräte und Materialien für die In-vitro-Bestimmungen

Feinwaage

Model Voyager; Ohaus, D-Giessen

Schieblehre

Fa. Mauser, St. Denis, Frankreich

PBS

Pufferlösung aus NaCl, KCl, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 und Aqua bidest., pH-Wert 7,5

2.6.4 Geräte, Materialien und Chemikalien für die histologischen Untersuchungen

2.6.4.1 Geräte und Materialien

Deckgläser

Menzel-Gläser, D-Braunschweig

Einbettautomat

Tissue Tec Vip; Miles Scientific, Naperville, USA

Objektträger

Super Frost Plus; Menzel-Gläser, D-Braunschweig

Rotationsmikrotom

HM 355 S; Micron, D-Aschheim

Wärmeschrank

Heraeus GmbH & Co. KG, D-Hanau

2.6.4.2 Chemikalien

Anilinalkohol

1 ml Anilinöl auf 100 ml 96%iges Isopropanol; Merck

Anilinblau-Orange-G-Essigsäure

0,5 g Anilinblau und 2 g Orange G (Chroma, D-Waldeck) in 100 ml Aqua dest. gelöst, 8 ml Eisessig dazu, die Lösung aufgeköcht, erkaltet und filtriert: Stammlösung, Verdünnung 1 : 1 bis 1 : 3 mit Aqua dest. wird zur Gebrauchslösung

Azokarminlösung

0,1 g Azokarmin G (Merck, D-Darmstadt) in 100 ml Aqua dest. aufgeschwemmt, kurz aufgeköcht und nach Abkühlen filtriert, anschließend 1 ml Eisessig hinzugefügt

DePeX

Serva Electrophoresis, D-Heidelberg

EGTA-Lösung

EGTA (Ethylen-Glycol-bis (β-Aminoethylether)-N,N,N',N'-Tetraessigsäure), Firma Serva GmbH, D-Heidelberg), NaCl, KCl, MgCl₂ und HEPES (2[4(2-Hydroxyethyl)-1-Piperazinyl]-Ethansulfonsäure, mit NaOH auf pH 7,4 eingestellt

Eisessig

Merck, D-Darmstadt

Eosin

Chroma, D-Waldeck

Essigsäurealkohol

1 ml Eisessig auf 100 ml 96%iges Isopropanol

Ethanol

Merck, D-Darmstadt

Formalin 10 %

Formaldehydlösung mind. 37 °C, säurefrei, stabilisiert mit etwa 10 % Methanol und Calciumcarbonat, für die Histologie (Merck, D-Darmstadt) 1 : 4 verdünnt mit PBS

Hämatoxylin

Histocom, Wien, Österreich

Histowax

Paraffin; Reichert-Jung, D-Heidelberg

Isopropanol 30 %, 50 %, 60 %, 70 %

Merck, D-Darmstadt

Methylbenzoat

Merck, D-Darmstadt

Phosphorwolframsäure

Merck, D-Darmstadt

Xylol

Merck, D-Darmstadt

2.7 Statistik

Zur statistischen Auswertung wurden bei allen Tiergruppen die Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Kontroll- und TAC-Gruppen berechnet. Mit Hilfe des Computerprogramms Prism der Firma GraphPad Software, San Diego, USA, wurden durch einfaktoriellen ANOVA und post-hoc Test nach Tukey Signifikanzen ermittelt. Differenzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ galten als signifikant. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte durch die Bildung von homogenen Gruppen.

3 Ergebnisse

3.1 Tierzahlen

Insgesamt gingen die Daten von 168 Tieren in die Arbeit ein. Die Mortalitätsraten waren in den einzelnen Gruppen aufgrund der verschiedenen Vorbehandlungen sehr unterschiedlich und werden im jeweiligen Kapitel dargestellt.

3.2 Akute Auswirkungen der transversen aortalen Konstriktion

Zur Darstellung der akuten kardiologischen Veränderungen durch die TAC wurden exemplarisch bei einer Maus der Gruppe 1 (m, männliche C57BL/6-Mäuse) linksventrikulärer Druck, Herzfrequenz und die maximale Druckabfalls- und Druckanstiegsgeschwindigkeit vor, während und nach TAC mit Hilfe des Millar-Katheters gemessen.

Der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP) zeigte einen Anstieg von 105 auf 155 mmHg innerhalb von 10 Minuten nach TAC und blieb danach konstant (Abb. 3.1). Der linksventrikuläre diastolische Druck (LVDP) stieg von 0 auf 15 mmHg innerhalb von 3 Minuten nach TAC und sank dann wieder auf 5 mmHg zum Zeitpunkt 10 Minuten, um anschließend konstant zu bleiben (Abb. 3.1).

Veränderung des linksventrikulären Druckes nach TAC

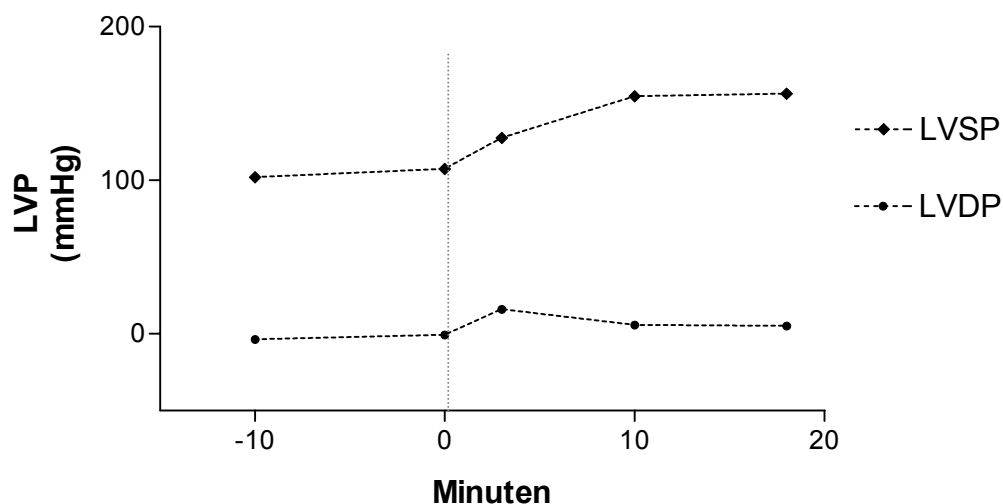


Abbildung 3.1: Linksventrikulärer systolischer und diastolischer Druck 10 min vor und 0, 3, 10 und 18 min nach TAC

Die Herzfrequenz (HR) stieg bereits während der Präparation der Aorta von 500 auf 642 Schläge pro Minute (b/min; Abb. 3.2). Nach TAC sank die HR innerhalb von 10 min auf 586 b/min und blieb dann relativ konstant.

Veränderung der Herzfrequenz nach TAC

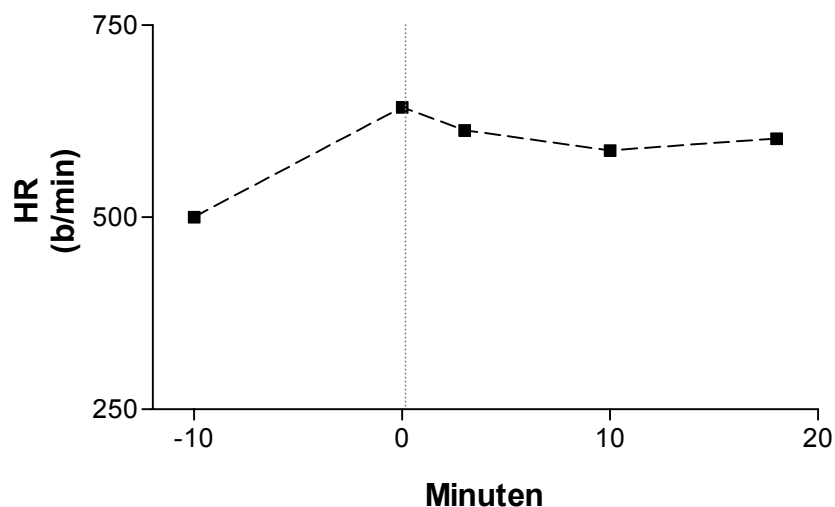


Abbildung 3.2: Herzfrequenz 10 min. vor und 0, 3, 10 und 18 min nach TAC

Ergebnisse

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($+Dp/dt_{\max}$) fiel sofort nach TAC von 12700 auf 7400 mmHg/sec ab, um dann wieder auf 10800 mmHg/sec zu steigen und ab dem Zeitpunkt 10 min nach TAC relativ konstant zu bleiben (Abb. 3.3). Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit ($-Dp/dt_{\min}$) fiel unmittelbar nach TAC von -10200 auf -5900 mmHg/sec ab und stieg dann wieder auf -8300 mmHg/sec zum Zeitpunkt 10 min, um im Bereich dieses Wertes zu bleiben.

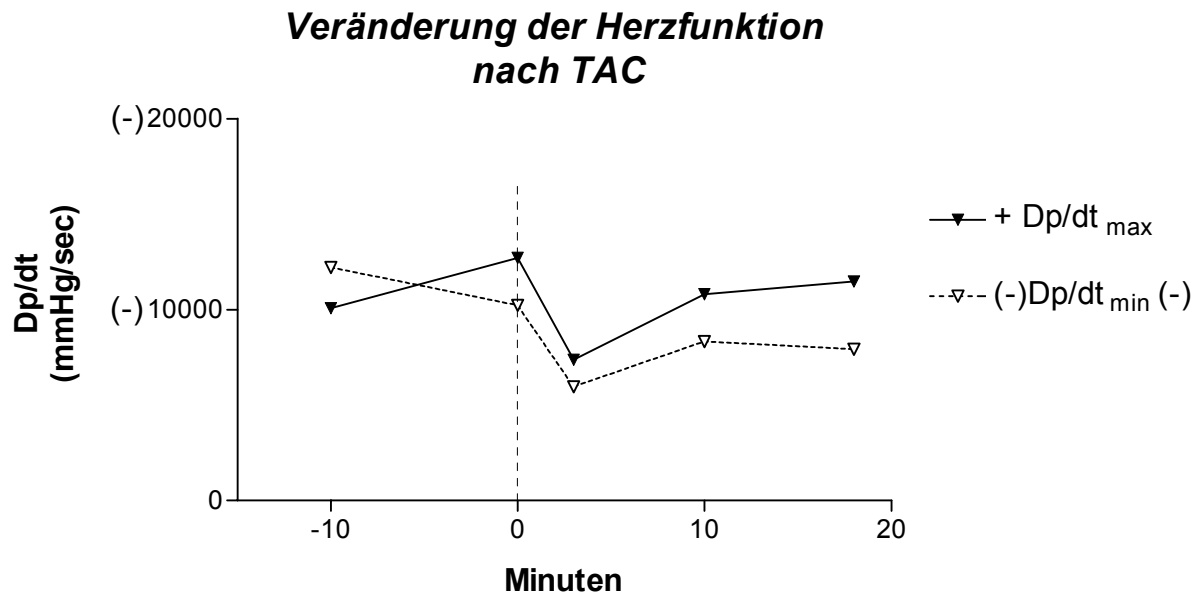


Abbildung 3.3: Linksventrikuläre Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit 10 min vor und 0, 3, 10 und 18 min nach TAC

3.3 Chronische Auswirkungen der transversen aortalen Konstriktion, 14 Tage nach TAC

Zunächst werden die Unterschiede zwischen TAC- und scheinoperierten Tieren (Kontrolle) anhand Gruppe m dargestellt. Im weiteren Verlauf des Ergebnisteils werden diese generell beobachteten Veränderungen bei den einzelnen Gruppen nicht mehr erwähnt.

In den Gruppen m und w (weibliche Tiere) wurden die TAC-operierten Tiere aufgrund eines unterschiedlich hohen linksventrikulären diastolischen Druckes (LVDP), als Parameter für eine beginnende Herzinsuffizienz, in zwei Untergruppen eingeteilt (TAC1: LVDP < 10 mmHg und TAC2: LVDP > 10 mmHg). Etwa 50 % der Tiere gehörte jeweils zu TAC1 bzw. TAC2. Erstaunlicherweise war diese trotz gleicher Operation unterschiedliche kardiale Beeinflussung bei keiner der voroperierten Gruppen zu beobachten. Bei allen voroperierten Gruppen gab es jeweils nur die Untergruppe TAC2, da hier der LVDP innerhalb der TAC-operierten Tiere immer über 10 mmHg lag.

Die Unterteilung der lediglich der TAC unterzogenen, nicht vorbehandelten Tiere in die beiden Untergruppen (TAC1, TAC2) war somit notwendig, um eine Vergleichsgruppe mit hämodynamisch ähnlicher Situation wie bei den Tieren zu erhalten, die zusätzlichen Eingriffen unterzogen waren.

3.3.1 Veränderung des Körpergewichtes

Bei scheinoperierten Tieren dieser Gruppe (Kontrolle) war innerhalb von 14 Tagen eine leichte Zunahme des Körpergewichtes (BW) von $23,49 \pm 1,08$ g auf $24,75 \pm 1,03$ g (Angaben MW \pm SD) festzustellen, welche aber nicht signifikant war (n. s.). Untergruppe TAC1 zeigte keine Gewichtsveränderung (von $23,61 \pm 1,57$ g auf $23,66 \pm 1,33$ g), Untergruppe TAC2 dagegen eine Abnahme des BW von $23,01 \pm 1,33$ g auf $21,78 \pm 1,70$ g (n. s.).

3.3.2 Morphologische Veränderungen der Organe

3.3.2.1 Gewichtszunahme von Herz und Lunge

Das Gewicht von linkem Ventrikel (LVW) und Herz (HW) war in TAC1 und TAC2 signifikant höher als in der Kontrolle. Auch zwischen TAC1 und TAC2 gab es signifikante Unterschiede. Das Lungengewicht (LW) war in TAC2 signifikant höher als in der Kontrolle und in TAC1 (Tab. 3.1).

14 Tage nach TAC	LVW (mg)	HW (mg)	LW (mg)
Kontrolle m	77,2 ± 5,0 a	95,8 ± 5,6 a	142,7 ± 12,7 a
TAC1 m	111,5 ± 11,4 b	129,5 ± 12,2 b	183,4 ± 49,0 a
TAC2 m	123,9 ± 9,0 c	146,4 ± 9,8 c	312,5 ± 74,2 b

Tabelle 3.1: LVW, HW und LW von Gruppe m, Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW, HW, LW) zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes (in %) im Bezug auf die Kontrolltiere war bei TAC1 + 44 ± 10 % und bei TAC2 + 60 ± 7 %.

Die Herzparameter linksventrikuläres Gewicht durch Tibialänge (LVW/TL) und linksventrikuläres Gewicht durch Körpergewicht (LVW/BW) ergaben in beiden TAC-Gruppen signifikant höhere Werte als in der Kontrolle (Tab. 3.2).

Ergebnisse

14 Tage nach TAC	LVW/TL (mg/mm)	LVW/BW (mg/g)
Kontrolle m	4,4 ± 0,3 a	3,1 ± 0,2 a
TAC1 m	6,4 ± 0,7 b	4,7 ± 0,6 b
TAC2 m	7,1 ± 0,4 c	5,8 ± 0,5 c

Tabelle 3.2. LVW/TL und LVW/BW von Gruppe m, Angaben: MW ± SD;

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW/TL, LVW/BW) zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.3.2.2 Histologische Veränderungen am Herzen

Einige Herzen aus den Gruppen m, w, mX (orchiektomierte männliche Tiere) und mX+T (orchiektomierte männliche Tiere mit Testosteron-Pellets) wurden exemplarisch zur Darstellung der Veränderungen histologisch aufgearbeitet. Bei den Querschnitten des Herzgewebes waren nach der Färbung deutliche Unterschiede zwischen den TAC-operierten Tieren und den Kontrolltieren zu erkennen. Es zeigte sich bei den TAC-Tieren eine deutliche Zunahme der Wanddicke des linken Ventrikels im Vergleich zur Kontrolle (Abb. 3.4).

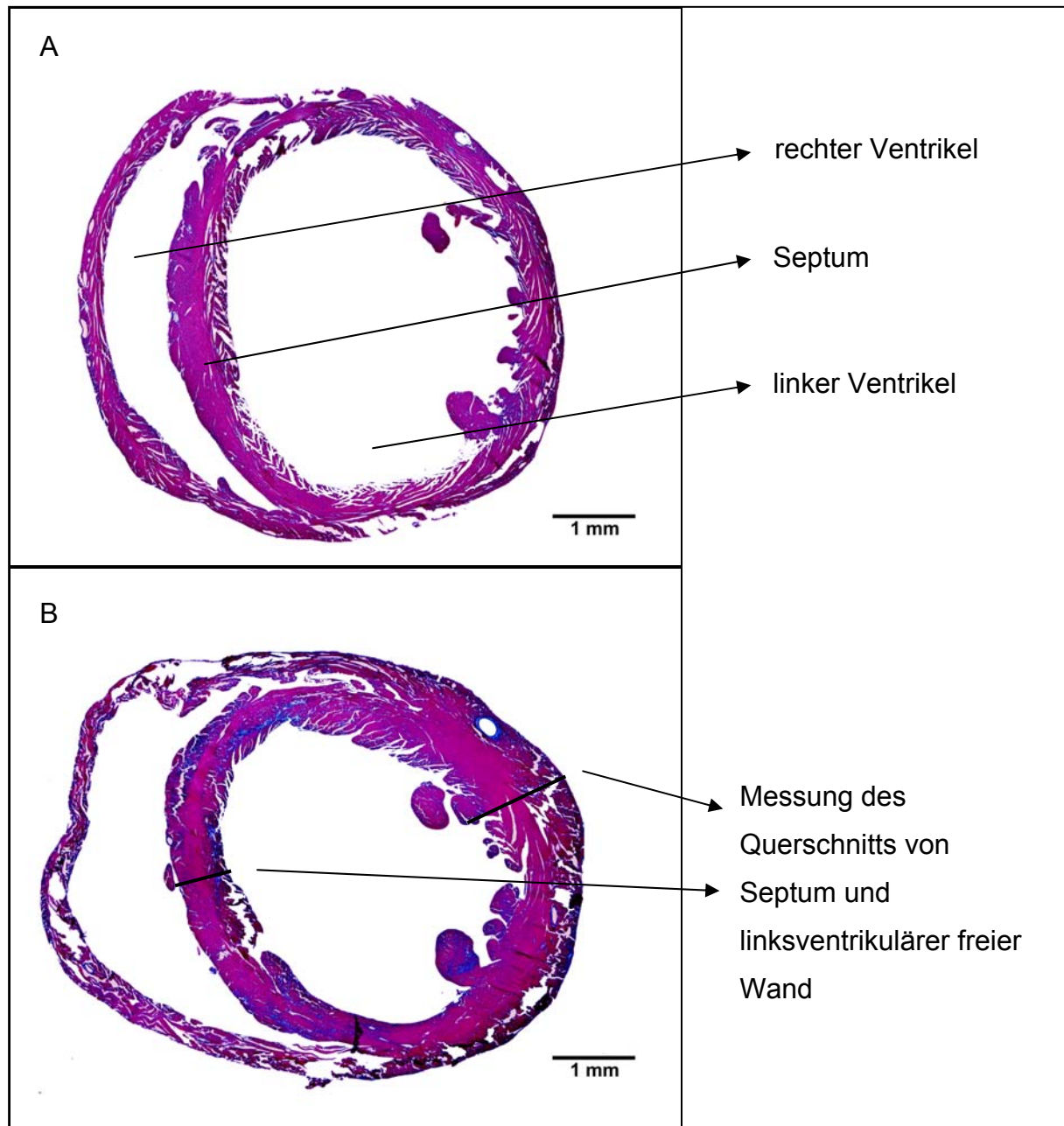


Abbildung 3.4: Histologische Querschnitte im oberen Drittel des Herzgewebes, Azan-Färbung

A: Herz eines Kontrolltieres

B: Herz eines TAC-Tieres

Die Septumdicke betrug bei den Kontrolltieren ca. 0,5 mm, bei den TAC-Tieren ca. 0,6 mm. Die Dicke der linksventrikulären freien Wand lag bei den Kontrolltieren bei ca. 0,75 mm, bei den TAC-Tieren bei ca. 1,25 mm.

In den Detailaufnahmen erkennt man bei den TAC-Tieren einen deutlich erhöhten Anteil an kollagenem Bindegewebe (blau gefärbt) im Interstitium des linksventrikulären Myokards (Abb. 3.5, A und B). Diese Kollageneinlagerungen (Fibrose-Areale) finden sich bei den TAC-Tieren auch perivaskulär (Abb. 3.5, C und D).

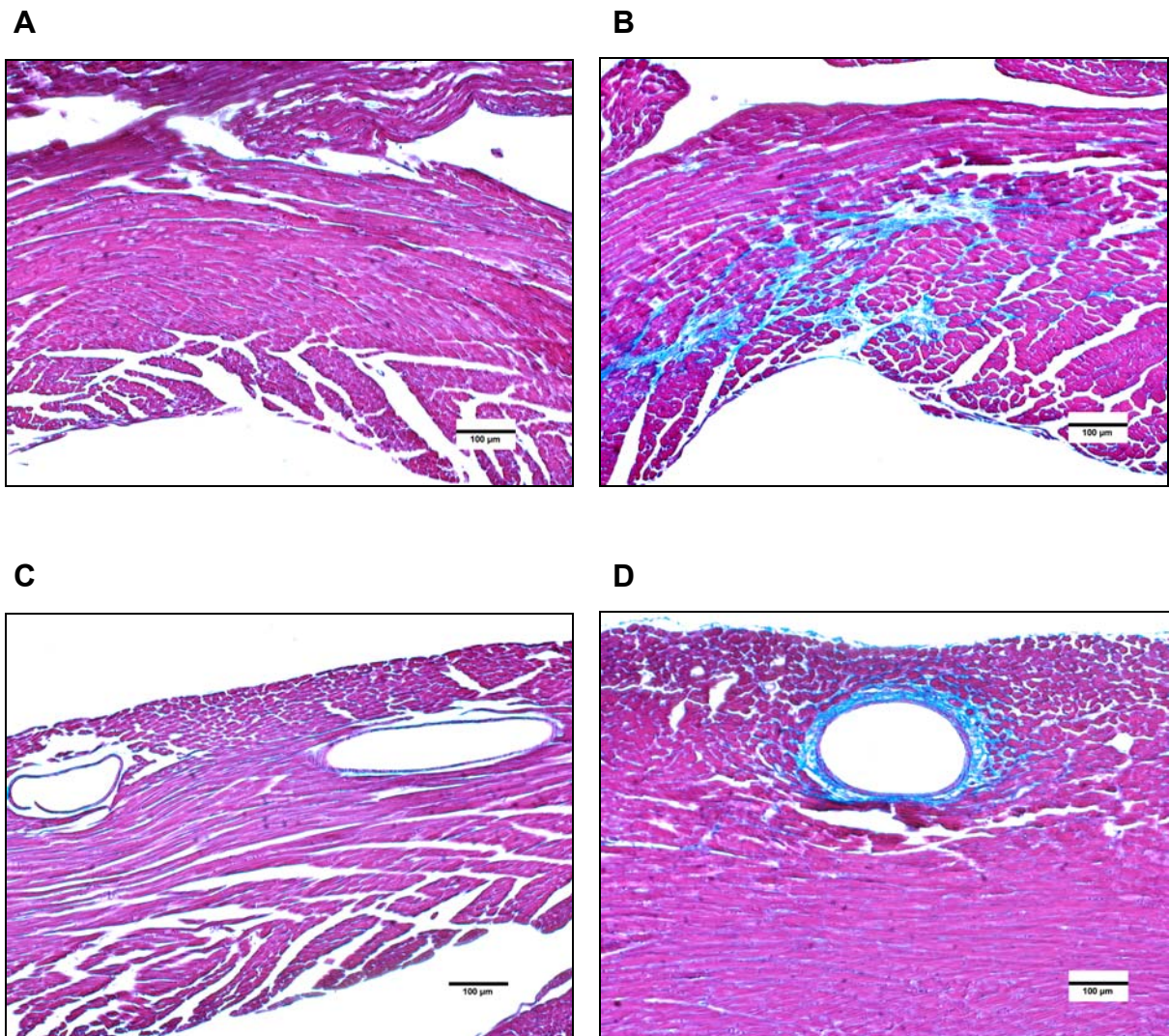


Abbildung 3.5: Detailaufnahmen des Herzmuskelgewebes der freien Wand des linken Ventrikels, Azan-Färbung

A und C: Kontrolle

B und D: TAC

3.3.3 Hämodynamik

3.3.3.1 Peripherer Blutdruck

Die Messungen ergaben bei allen TAC-Tieren einen signifikant höheren systolischen arteriellen Blutdruck (SAP) als bei den Kontrolltieren (Abb. 3.6). Der diastolische arterielle Blutdruck (DAP) war bei den TAC-Tieren nicht erhöht. Der mittlere arterielle Blutdruck (MABP) war in TAC1 und TAC2 gegenüber dem der Kontrolltiere signifikant erhöht (Abb. 3.7).

Die Zahlenwerte aller Hämodynamik-Messungen sind im Anhang angegeben.

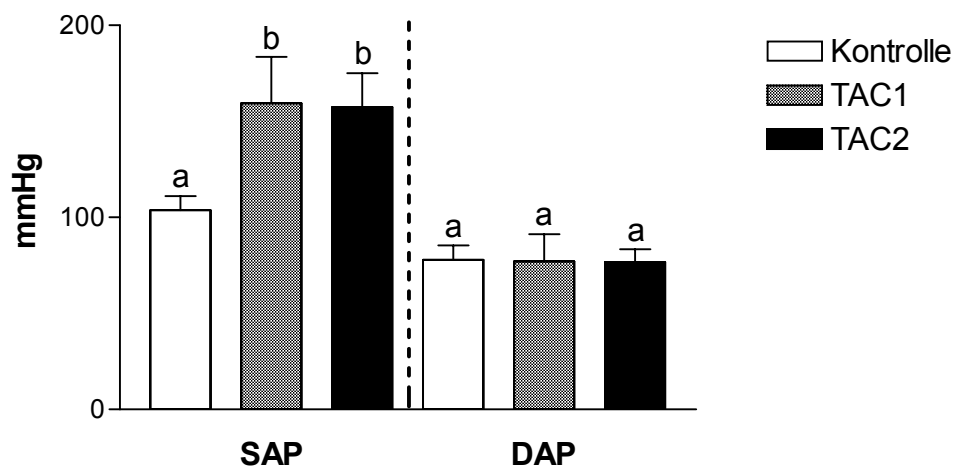


Abbildung 3.6: SAP und DAP von Gruppe m, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (SAP, DAP) zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

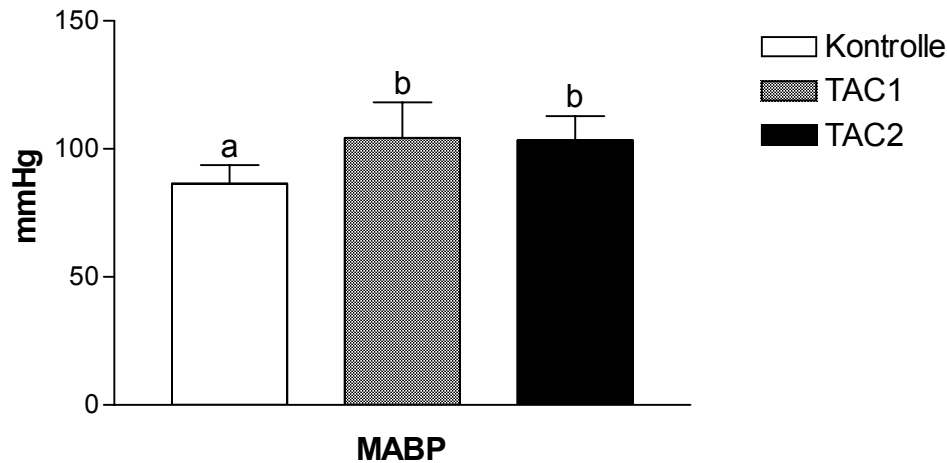


Abbildung 3.7: MABP von Gruppe m, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des MABP zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.3.3.2 Herzfrequenz und linksventrikulärer Druck

Die Herzfrequenz (HR) der TAC-Tiere war bei gleicher Narkosetiefe (1 Vol.-% Isofluran) gegenüber der HR der Kontrolltiere signifikant erhöht (Abb. 3.8). Der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP) war bei allen TAC-Tieren signifikant erhöht, der linksventrikuläre diastolische Druck (LVDP) jedoch nur bei TAC2 (Abb. 3.9).

Ergebnisse

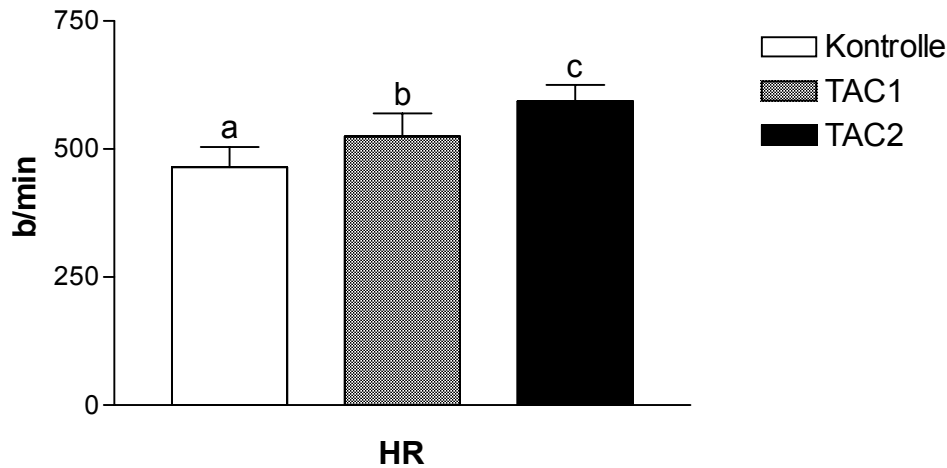


Abbildung 3.8: HR der Kontroll- ($n = 8$), TAC1- ($n = 10$) und TAC2-Tiere ($n = 5$) von Gruppe m, Angaben: $MW \pm SD$

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der HR zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

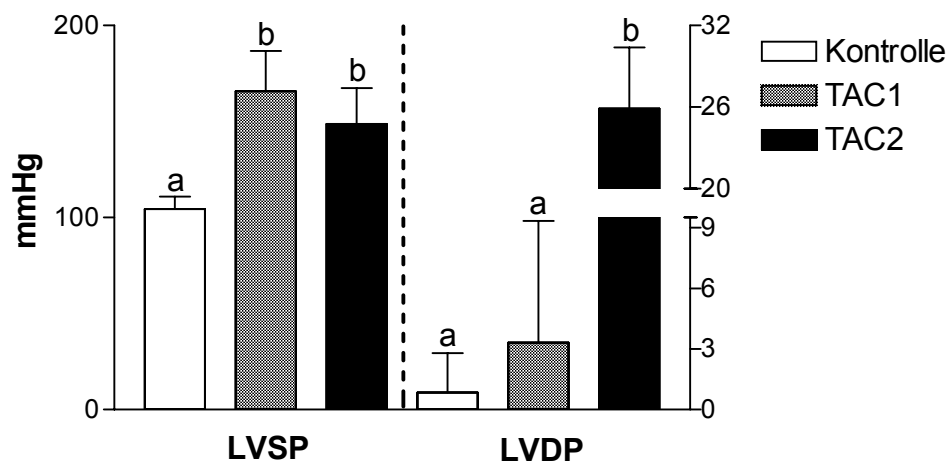


Abbildung 3.9: LVSP und LVDP von Gruppe m, Angaben: $MW \pm SD$

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVSP, LVDP) zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.3.3.3 Maximale Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit

Sowohl die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (Kontraktionsgeschwindigkeit, $+Dp/dt_{\max}$) als auch die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (Relaxationsgeschwindigkeit, $-Dp/dt_{\min}$) waren zwischen Kontroll- und TAC1-Tieren nicht signifikant unterschiedlich. Bei TAC2 waren beide Werte signifikant niedriger (Abb. 3.10).

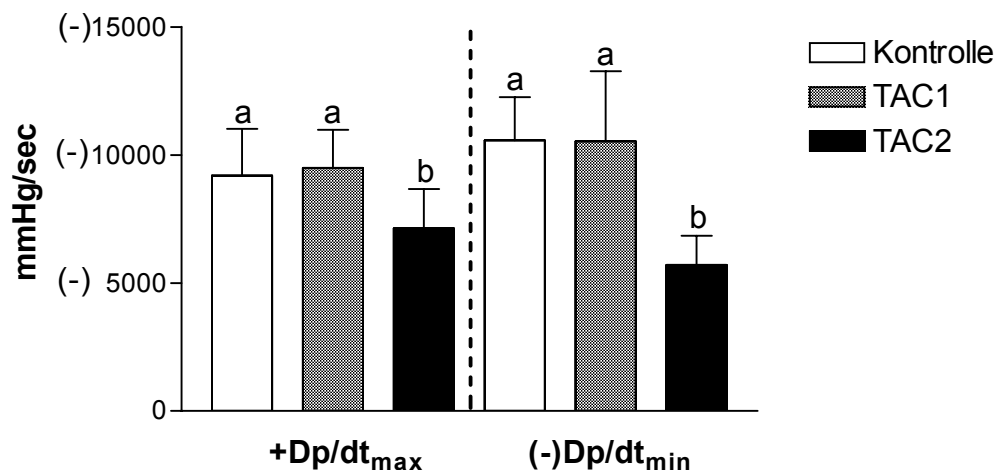


Abbildung 3.10: $+Dp/dt_{\max}$ und $-Dp/dt_{\min}$ von Gruppe m, Angaben: $MW \pm SD$

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter ($+Dp/dt_{\max}$, $-Dp/dt_{\min}$) zwischen den 3 Gruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.4 Hormon-Serumspiegel

Die Vorbehandlungen der Tiere führten bei den jeweiligen Gruppen zu unterschiedlichen Serumspiegeln der Geschlechtshormone. Es wurden jeweils drei Hormonstadien untersucht: die Wirkungen des Hormonentzugs durch Kastration, der physiologische Zustand ohne Voroperation und die Wirkung pharmakologischer Hormongaben nach Kastration. Die Kastration vor der Hormongabe diente dazu, einen identischen Ausgangslevel zu erzeugen.

Der Serumspiegel von 17β -Östradiol betrug in Gruppe wX+Ö 262 ± 147 pg/ml, $n = 9$ (Angaben MW \pm SD). In Gruppe wX lag der Serumspiegel unterhalb des zu messenden Bereiches: > 1 pg/ml, $n = 8$. Bei weiblichen adulten C57BL/6-Mäusen beträgt der Serumspiegel unter physiologischen Bedingungen je nach Zyklusphase etwa 45 - 70 pg/ml (Fata et al., 2001).

Die Testosteron-Serumspiegel der männlichen Gruppen lagen in folgenden Bereichen (Angaben MW \pm SD):

Gruppe mX: $0,08 \pm 0,03$ ng/ml, $n = 6$

Gruppe mX+T: $6,55 \pm 0,75$ ng/ml, $n = 5$

Gruppe m+Cyp: $6,07 \pm 3,69$ ng/ml, $n = 4$

Gruppe m+Flu: $1,37 \pm 1,17$ ng/ml, $n = 8$

Bei männlichen adulten C57BL/6 Mäusen liegen die Serumlevel unter physiologischen Bedingungen bei etwa 1,12 - 1,17 ng/ml (Nelson et al., 1975).

Die Hormon-Serumspiegel der intakten männlichen und weiblichen Tiere wurden in der Arbeit nicht zusätzlich gemessen.

3.5 Ergebnisse der einzelnen Tiergruppen im Vergleich

3.5.1 Gruppen 1 und 2: männliche und weibliche Tiere

3.5.1.1 Mortalitätsrate

Innerhalb der 14 Tage nach dem Eingriff lag die Mortalitätsrate in Gruppe m bei den Kontrolltieren bei 4 % und bei den TAC-Tieren bei 32 %. In Gruppe w starben von den Kontrolltieren ebenfalls 4 %, von den TAC-Tieren 23 %.

Die überlebenden Tiere gingen in die Studien ein. Es waren folgende Tierzahlen:

Gruppe m: Kontrolle: n = 16, TAC1: n = 7, TAC2: n = 9

Gruppe w: Kontrolle: n = 14, TAC1: n = 8, TAC2: n = 9

3.5.1.2 Körpergewicht und Morphologie der Organe

Die Tiere der Gruppen m und w wurden aufgrund der in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Kriterien jeweils in TAC1 und TAC2 eingeteilt.

Die Veränderung des BW bei den männlichen Tieren ist in Kapitel 3.2.2.1 dargestellt. Bei den weiblichen Tieren waren in der Kontrollgruppe sowie in TAC1 und TAC2 nur sehr geringe Veränderungen des BW festzustellen (Kontrolle: von $21,95 \pm 3,01$ g auf $22,39 \pm 2,94$ g; TAC1 von $23,09 \pm 2,24$ g auf $23,75 \pm 2,42$ g; TAC2 von $23,26 \pm 1,56$ g auf $23,01 \pm 2,68$ g, alle n. s.).

Der Vergleich der Organgewichte und der errechneten Herzparameter zwischen beiden Gruppen ergab keine Unterschiede innerhalb der Kontrollen sowie innerhalb von TAC1 und TAC2 (siehe Tab. 3.3 und 3.4). Die Signifikanzen zwischen den TAC- und scheinoperierten Tieren werden nicht erneut dargestellt (siehe Abb. 3.1).

Ergebnisse

14 d nach TAC	LVW (mg)	HW (mg)	LW (mg)
Kontrolle m	77,2 ± 5,0 a	95,8 ± 5,6 a	142,7 ± 12,7 a
Kontrolle w	68,7 ± 6,4 a	85,5 ± 7,6 a	145,2 ± 11,5 a
TAC1 m	111,5 ± 11,4 a	129,5 ± 12,2 a	183,4 ± 49,0 a
TAC1 w	116,0 ± 10,8 a	133,5 ± 14,9 a	215,5 ± 85,5 a
TAC2 m	123,9 ± 9,0 a	146,4 ± 9,8 a	312,5 ± 74,2 a
TAC2 w	128,1 ± 10,6 a	151,0 ± 11,2 a	331,5 ± 87,0 a

Tabelle 3.3: LVW, HW und LW der Gruppen m und w vergleichend,

Angaben: MW ± SD

Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW, HW, LW) zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Ergebnisse

14 d nach TAC	LVW/TL (mg/mm)	LVW/BW (mg/g)
Kontrolle m	4,4 ± 0,3 a	3,1 ± 0,2 a
Kontrolle w	3,9 ± 0,2 a	3,1 ± 0,2 a
TAC1 m	6,4 ± 0,7 a	4,7 ± 0,6 a
TAC1 w	6,5 ± 0,6 a	4,9 ± 0,7 a
TAC2 m	7,1 ± 0,4 a	5,8 ± 0,5 a
TAC2 w	7,2 ± 0,5 a	5,6 ± 0,4 a

Tabelle 3.4: LVW/TL und LVW/BW der Gruppen m und w vergleichend,

Angaben: MW ± SD

Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW/TL, LVW/BW) zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Die weiblichen Kontrolltiere hatten ein niedrigeres linksventrikuläres Gewicht als die männlichen Vergleichstiere. Die Zunahme des LVW (in %) bei den TAC1- und TAC2-Tieren war im weiblichen Kollektiv aber signifikant stärker ausgeprägt als bei den männlichen Tieren (Abb. 3.11).

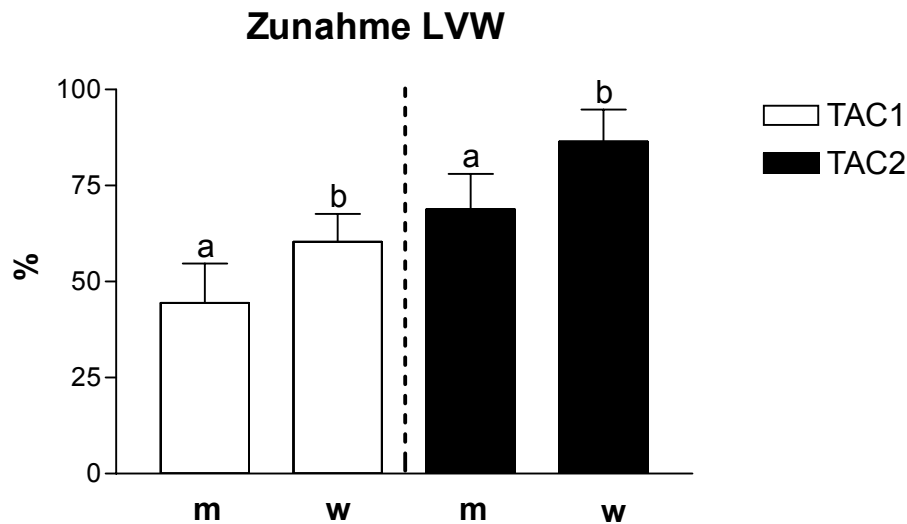


Abbildung 3.11: Zunahme des linksventrikulären Gewichtes nach TAC im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle (in %), Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (Zunahme LVW bei TAC1, TAC2) zwischen den Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Die ausgeprägtere Hypertrophie der linksventrikulären Wand nach TAC bei den weiblichen Tieren war in den histologischen Querschnitten des Herzgewebes zu erkennen (Abb. 3.12).

Bei den Kontrolltieren aus Gruppe w betrug die Wanddicke des Septums ca. 0,5 mm, wie auch schon bei den Kontrolltieren aus Gruppe m (Abb. 3.4). Die Septumdicke der TAC-Tiere lag bei Gruppe w bei ca. 0,75 mm, bei Gruppe m betrug sie ca. 0,6 mm. Die linksventrikuläre freie Wand war bei den Kontrolltieren ca. 0,6 mm (Gruppe w) bzw. ca. 0,75 mm (Gruppe m) breit, bei den TAC-Tieren betrug die Wanddicke 1,25 mm (Gruppe w) bzw. 1,2 mm (Gruppe m).

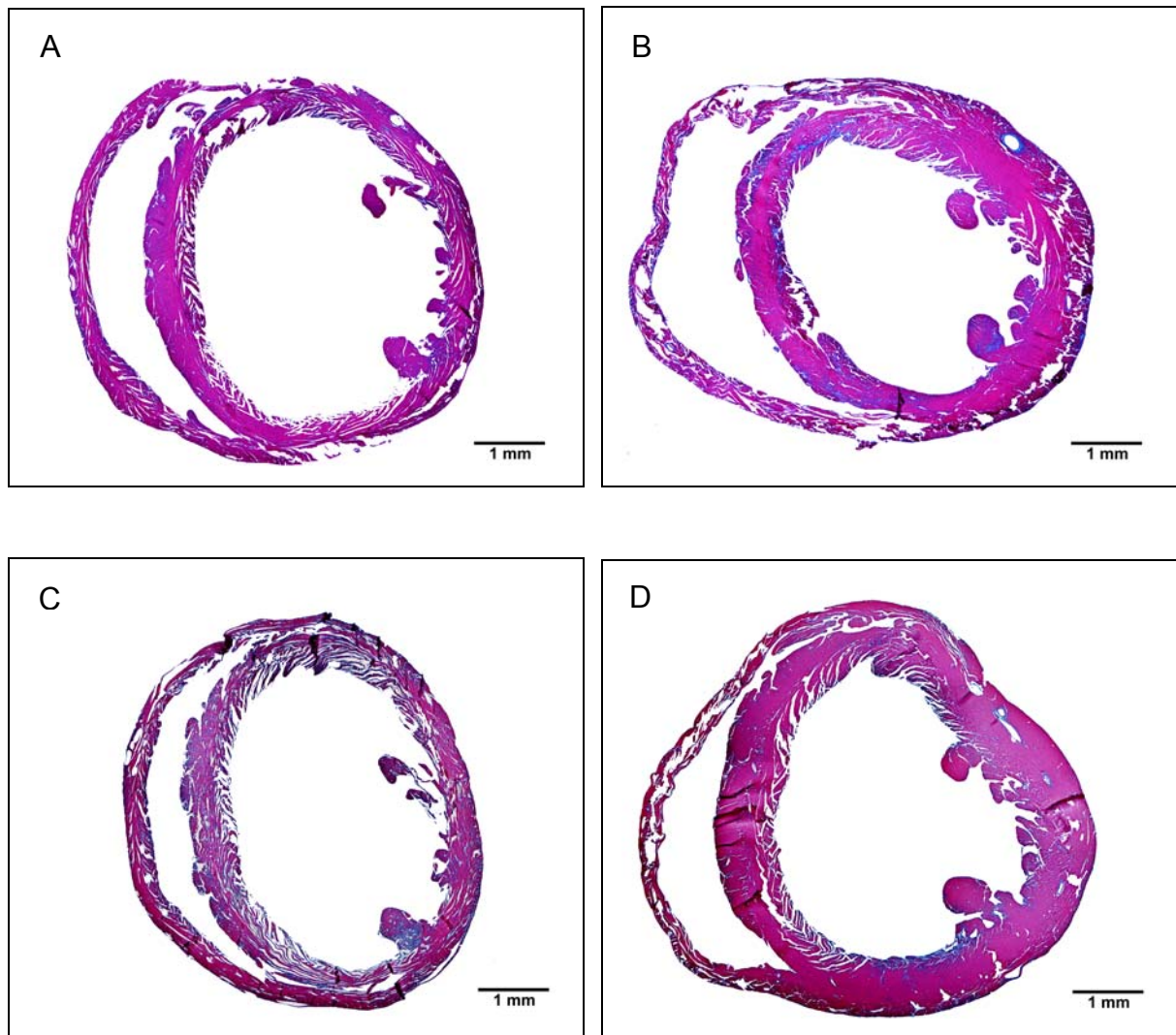


Abbildung 3.12: Histologische Querschnitte im oberen Drittel des Herzgewebes, Azan-Färbung

A: Kontrolle Gruppe m

B: TAC2 Gruppe m

C: Kontrolle Gruppe w

D: TAC2 Gruppe w

3.5.1.3 Hämodynamik

Der systolische und der diastolische arterielle Blutdruck (SAP und DAP) der Gruppen m und w waren innerhalb der Kontrollen sowie innerhalb von TAC1 und TAC 2 nicht signifikant unterschiedlich (Abb.3.13 und 3.14). Auch der mittlere arterielle Blutdruck (MABP) war bei diesem Gruppenvergleich nicht unterschiedlich (nicht abgebildet).

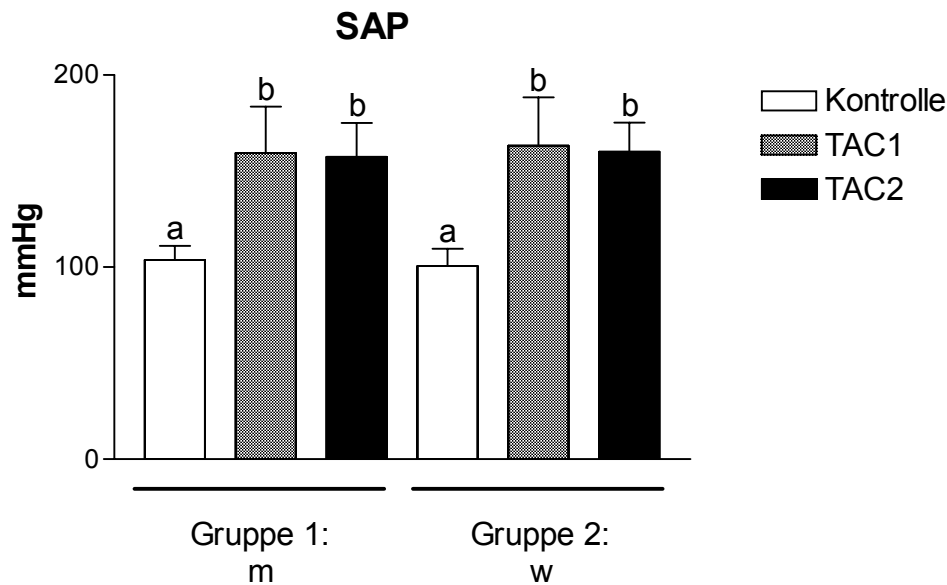


Abbildung 3.13: SAP der Gruppen m und w vergleichend, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des SAP zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

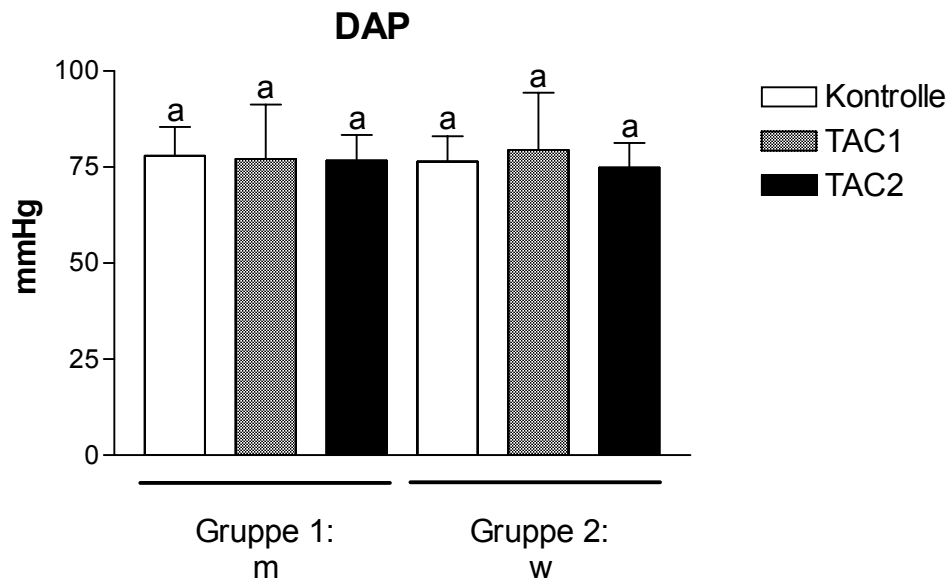


Abbildung 3.14: DAP der Gruppen m und w vergleichend , Angaben: $MW \pm SD$

Ein statistischer Vergleich des DAP zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Beim Vergleich der Herzfrequenz (HR) sowie des linksventrikulären systolischen und diastolischen Druckes (LVSP und LVDP) der Gruppen m und w ergaben sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Untergruppen Kontrolle, TAC1 und TAC2 (Abb. 3.15 und 3.16). Interessanter Weise war bei den männlichen TAC2-Tieren jedoch einen tendenziell höherer linksventrikulärer diastolischer Druck festzustellen.

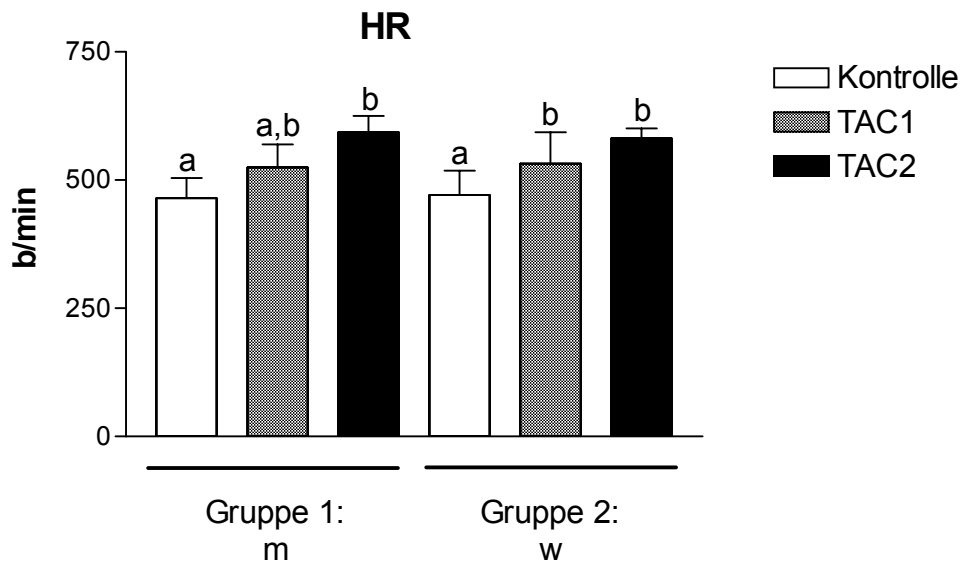


Abbildung 3.15: HR der Gruppen m und w vergleichend, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der HR zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

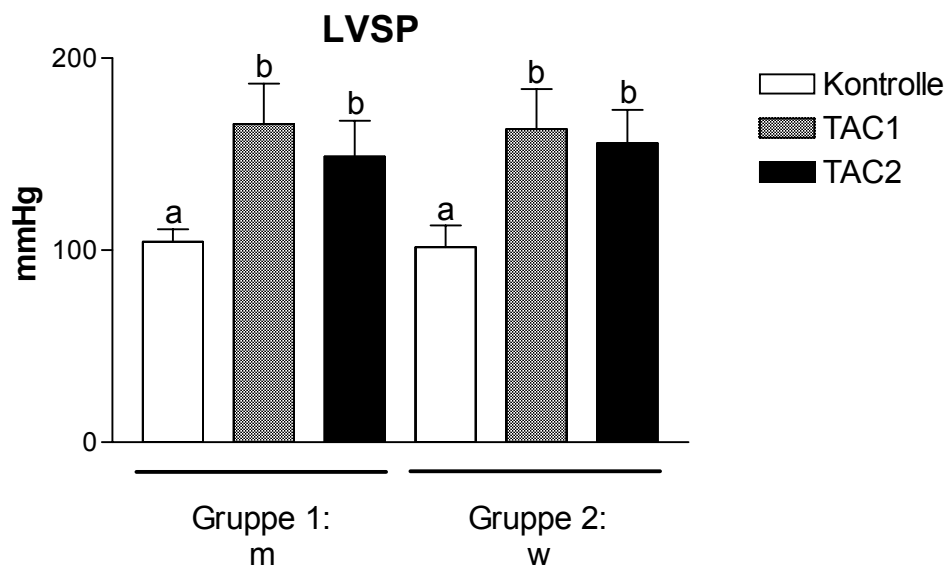


Abbildung 3.16: LVSP der Gruppen m und w vergleichend, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVSP zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

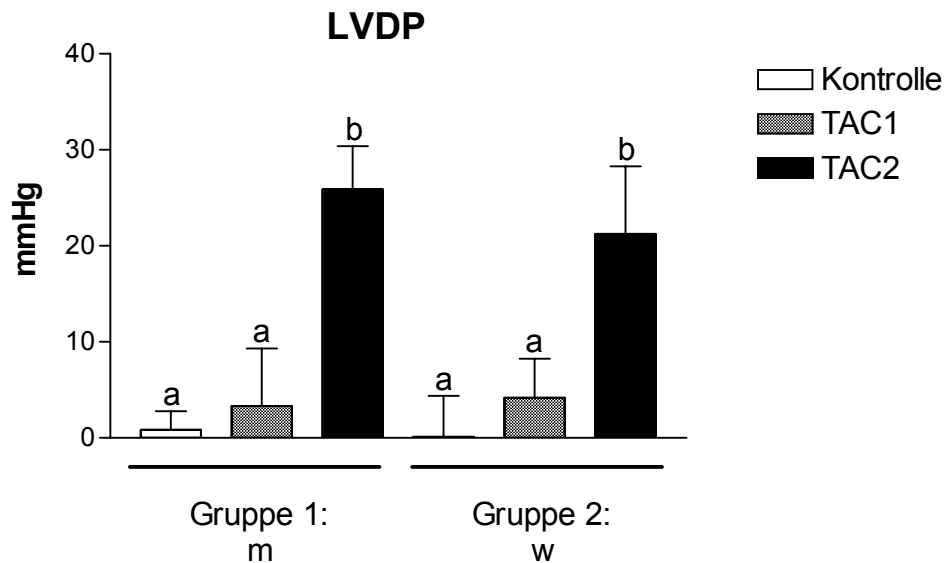


Abbildung 3.17: LVDP der Gruppen m und w vergleichend, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVDP zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($+Dp/dt_{\max}$) war beim Vergleich zwischen den jeweiligen Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der weiblichen und männlichen Tiere nicht signifikant unterschiedlich, die TAC2-Untergruppe der männlichen Tiere zeigte jedoch eine tendenziell geringere Kontraktionsgeschwindigkeit (Abb. 3.18). Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit ($-Dp/dt_{\min}$) war ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich, bei der Untergruppe TAC2 der männlichen Tiere war die Relaxationsgeschwindigkeit aber tendenziell geringer (Abb. 3.19).

Die vorliegenden hämodynamischen Messungen sprechen für eine tendenziell bessere kardiale Funktion der weiblichen Tiere nach Druckbelastung.

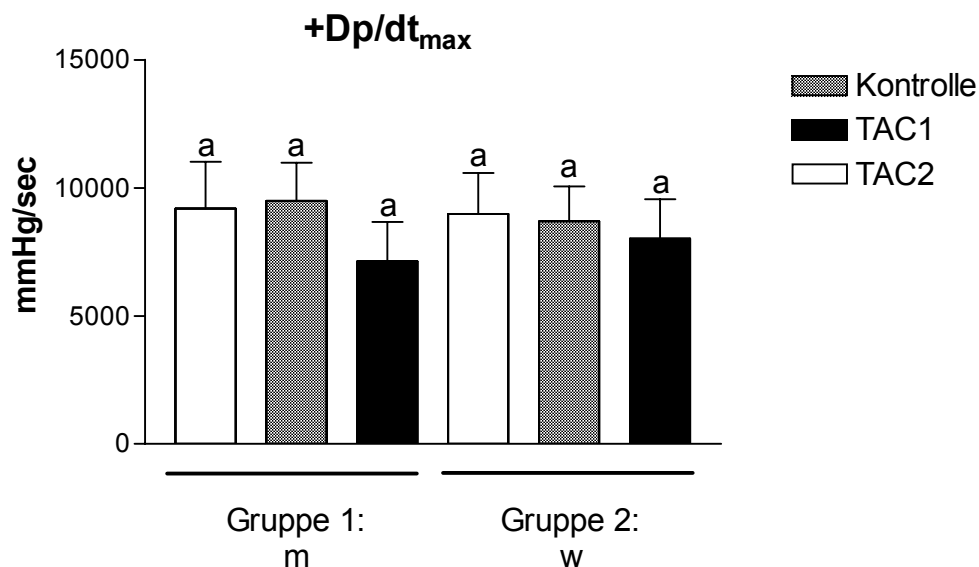


Abbildung 3.18: +Dp/dt_{max} der Gruppen m und w, Angaben: MW ± SD

Ein statistischer Vergleich der +Dp/dt_{max} zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

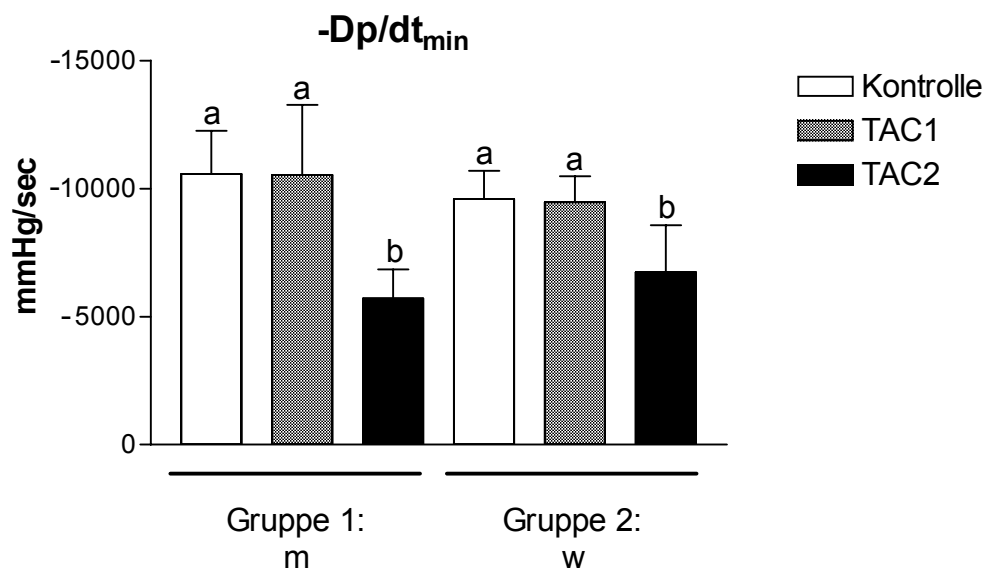


Abbildung 3.19: -Dp/dt_{min} der Gruppen m und w, Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der -Dp/dt_{min} zwischen den Untergruppen (Kontrolle, TAC1, TAC2) der Gruppen m und w wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.5.2 Gruppen 1, 3 und 4: männliche Tiere, orchiectomierte und orchiectomierte mit Testosteron-Übersubstitution

3.5.2.1 Mortalitätsrate

Die Mortalitätsrate von Gruppe m ist in Kapitel 3.4.1.1 angegeben. Bei den Kontrolltieren aus Gruppe 3 (mX) starben 0 % innerhalb der 14 Tage nach dem Eingriff, bei den TAC-Tieren aus dieser Gruppe starben 44 %. In Gruppe 4 (mX+T) lag die Mortalitätsrate der Kontrolltiere ebenfalls bei 0 % und die der TAC-Tiere bei 75 %.

Die überlebenden Tiere gingen in die Studie ein. Es waren folgende Tierzahlen:

Gruppe mX: Kontrolle: n = 15, TAC2: n = 20

Gruppe mX+T: Kontrolle: n = 15, TAC2: n = 11

3.5.2.2 Körpergewicht und Morphologie der Organe

Die Gruppen mX und mX+T wurden jeweils in Kontrolle und TAC2 eingeteilt, da alle Tiere nach transverser aortaler Konstriktion aufgrund der in Kapitel 3.3 beschriebenen Kriterien TAC2 zuzuordnen waren.

Das Körpergewicht der Kontrolltiere blieb in Gruppe mX innerhalb der 14 Tage nach dem Eingriff konstant (von $23,75 \pm 2,40$ g auf $23,81 \pm 2,29$ g), nahm bei Gruppe mX+T jedoch leicht ab (von $26,78 \pm 2,18$ g auf $25,77 \pm 2,72$ g, n. s.). Bei den TAC2-Tieren war in Gruppe mX eine leichte Abnahme des BW festzustellen (von $23,82 \pm 1,68$ g auf $22,55 \pm 2,05$ g, n. s.). In Gruppe mX+T gab es bei den TAC2-Tieren eine signifikante Abnahme des BW (von $26,82 \pm 2,70$ g auf $23,78 \pm 2,02$ g, $p < 0,05$).

Bei den orchiectomierten Tieren war festzustellen, dass sowohl die Kontroll- als auch die TAC2-Untergruppen ohne Testosteron-Behandlung ein signifikant geringeres Herzgewicht (LVW und HW) hatten als die Tiere mit Testosteron-Übersubstitution (Tab. 3.5).

Bei den Testosteron-behandelten, druckbelasteten Tieren zeigten sich neben höheren Herzgewichten auch massiv erhöhte Lungengewichte, was auf einen höheren Grad der Herzinsuffizienz in dieser Untergruppe hinweist.

Die Organgewichte der männlichen unbehandelten Tiere waren zu denen der orchiectomierten Tiere mit Testosteron-Übersubstitution nicht signifikant unterschiedlich, sie waren aber in allen Fällen tendenziell niedriger.

Ergebnisse

14 d nach TAC	LVW (mg)	HW (mg)	LW (mg)
Kontrolle m	77,2 ± 5,0 a, b	95,8 ± 5,6 a, b	142,7 ± 12,7 a
Kontrolle mX	70,1 ± 7,1 a	90,5 ± 9,5 a	138,4 ± 9,1 a
Kontrolle mX+T	86,8 ± 6,7 b	108,7 ± 10,5 b	144,2 ± 16,0 a
TAC1 m	111,5 ± 11,4	129,5 ± 12,2	183,4 ± 49,0
TAC2 m	123,9 ± 9,0 a	146,4 ± 9,8 a	312,5 ± 74,2 a, b
TAC2 mX	108,4 ± 14,0 b	128,3 ± 17,0 b	256,9 ± 80,6 a
TAC2 mX+T	126,3 ± 13,4 a	151,0 ± 15,0 a	370,0 ± 63,8 b

Tabelle 3.5: LVW, HW und LW der Gruppen m, mX und mX+T,

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen. Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW, HW, LW) mittels einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey wurde zwischen den horizontal zusammengefassten Gruppen durchgeführt.

Der Grad der Zunahme des linksventrikulären Gewichtes nach Druckbelastung war bei den drei Gruppen unterschiedlich ausgeprägt (Abb. 3.20). Die vorbehandelten Tiere (Gruppen mX und mX+T) zeigten eine geringer ausgeprägte Adaptions-Hypertrophie nach Druckbelastung, wobei die bereits vor der Druckbelastung durch Testosteron-Übersubstitution hypertrophierten Herzen die geringste linksventrikuläre Zunahme zeigten.

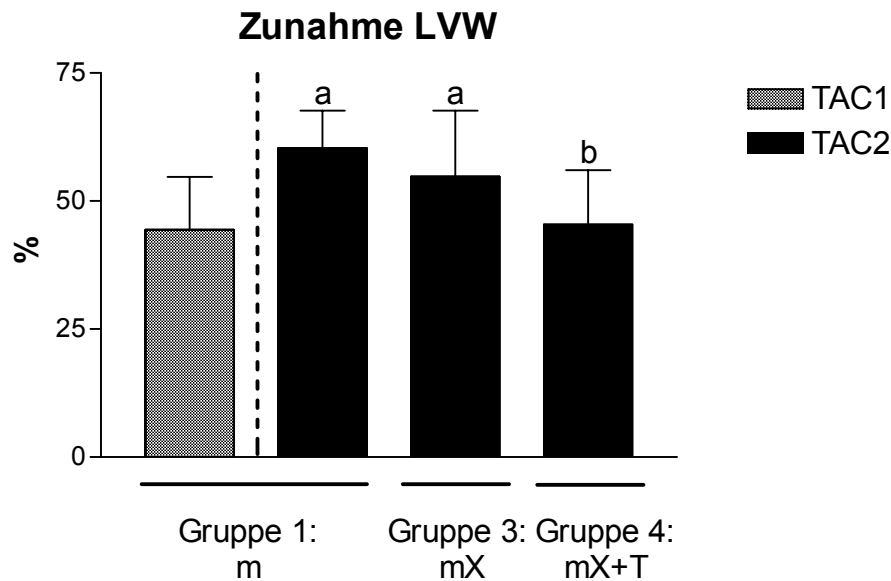


Abbildung 3.20: Zunahme des linksventrikulären Gewichtes nach TAC im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle (in %), Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (Zunahme LVW bei TAC1, TAC2) zwischen den Gruppen m, mX und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Durch den Vergleich des Herzparameters linksventrikuläres Gewicht / Tibiallänge (LVW/TL) zwischen den Gruppen konnte die stärker ausgeprägte Herzhypertrophie der Testosteron-behandelten Tiere mit und ohne Druckbelastung bestätigt werden (Tab. 3.6). Der Parameter linksventrikuläres Gewicht / Körpergewicht (LVW/BW) war bei der Analyse nur bedingt aussagekräftig, da der Wert massiv durch die unterschiedliche postoperative Abnahme des Körpergewichtes der Tiere beeinflusst wurde.

Bei allen Testosteron-behandelten Tieren war außerdem eine deutliche Verkleinerung der Thymuslappen festzustellen.

Ergebnisse

14 d nach TAC	LVW/TL (mg/mm)	LVW/BW (mg/g)
Kontrolle m	4,4 ± 0,3 a,b	3,1 ± 0,1 a
Kontrolle mX	4,0 ± 0,3 a	2,9 ± 0,2 a
Kontrolle mX+T	4,9 ± 0,4 b	3,4 ± 0,1 a
TAC1 m	6,4 ± 0,6	4,7 ± 0,5
TAC2 m	7,1 ± 0,4 a	5,8 ± 0,4 a
TAC2 mX	6,1 ± 0,7 b	4,8 ± 0,8 b
TAC2 mX+T	7,1 ± 0,7 a	5,3 ± 0,8 a, b

Tabelle 3.6: LVW/TL und LVW/BW der Gruppen m, mX und mX+T,

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen. Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW/TL, LVW/BW) mittels einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey wurde zwischen den horizontal zusammengefassten Gruppen durchgeführt.

Bei den histologischen Herzschnitten der drei Gruppen waren mikroskopisch deutliche Unterschiede zu erkennen. Die Kontroll- und TAC2-Tiere aus Gruppe mX hatten eine geringere Wanddicke des linken Ventrikels als die Kontroll- und TAC2-Tiere aus den Gruppen m und mX+T (Abb. 3.21). Die Herzwanddicken der Tiere aus den Gruppen m und mX+T waren in etwa gleich. Da die Formalinschnitte der Gruppen mX und mX+T teilweise auseinander gerissen waren, erschien eine Messung der Wanddicke nicht sinnvoll. Der Grad der entwickelten Myokardfibrose wurde nicht quantitativ bestimmt, scheint sich aber nach der mikroskopischen Beurteilung nicht deutlich zu unterscheiden.

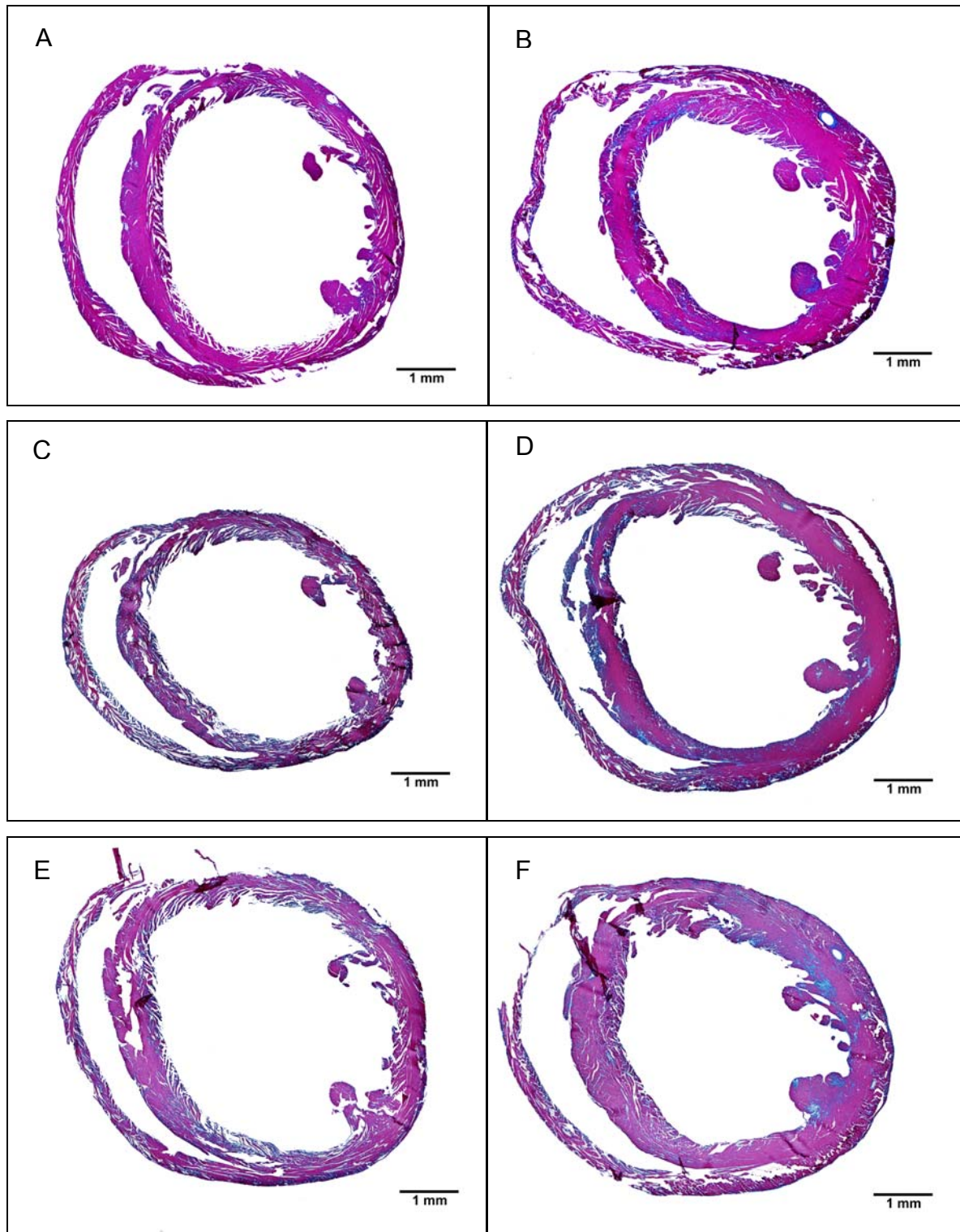


Abbildung 3.21: Histologische Querschnitte im oberen Drittel des Herzgewebes, linker und rechter Ventrikel

A: Kontrolle Gruppe m; B: TAC2 Gruppe m; C: Kontrolle Gruppe mX; D: TAC2 Gruppe mX; E: Kontrolle Gruppe mX+T; F: TAC2 Gruppe mX+T

3.5.2.3 Hämodynamik

Der systolische arterielle Blutdruck war zwischen den jeweiligen Untergruppen der drei zu vergleichenden Tiergruppen nicht unterschiedlich (Abb. 3.22). Bei den orchiectomierten Kontrolltieren führte die Testosteron-Übersubstitution zu einem signifikanten Anstieg des diastolischen arteriellen Blutdruckes (Abb. 3.23).

Beim Vergleich des MABP zwischen den Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (nicht dargestellt).

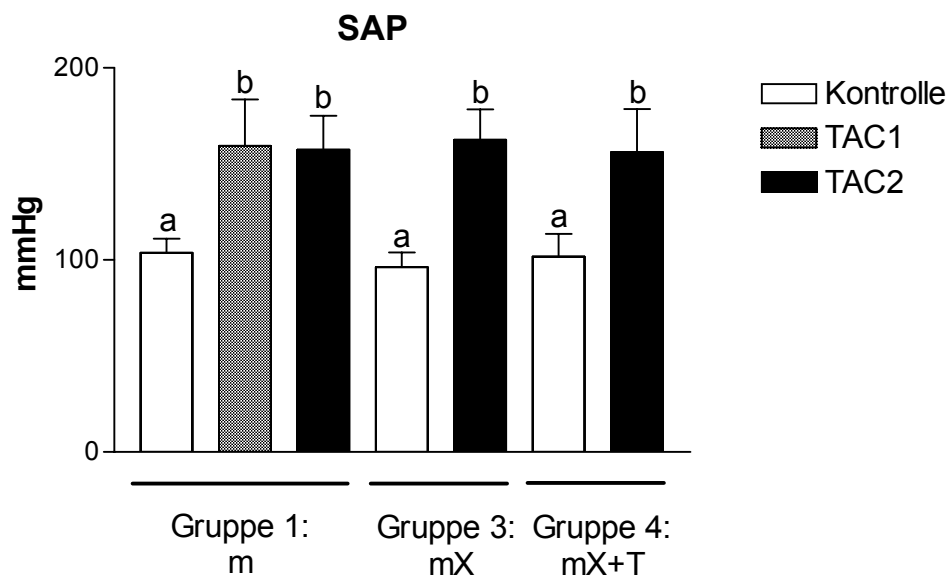


Abbildung 3.22: SAP der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des SAP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

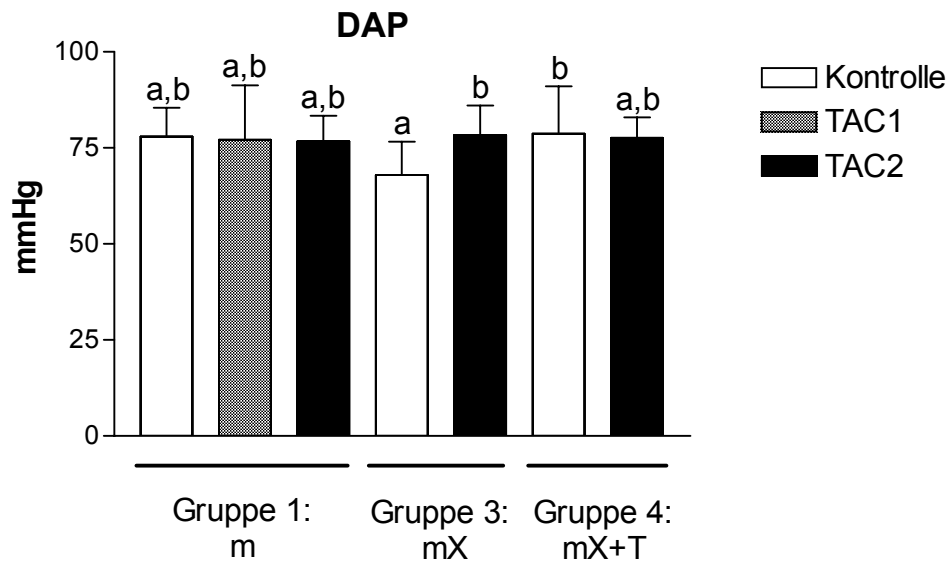


Abbildung 3.23: DAP der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des DAP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mx und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Die Herzfrequenz sowie der linksventrikuläre systolische und diastolische Druck zeigten beim Vergleich der jeweiligen Untergruppen keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.24, 3.25 und 3.26).

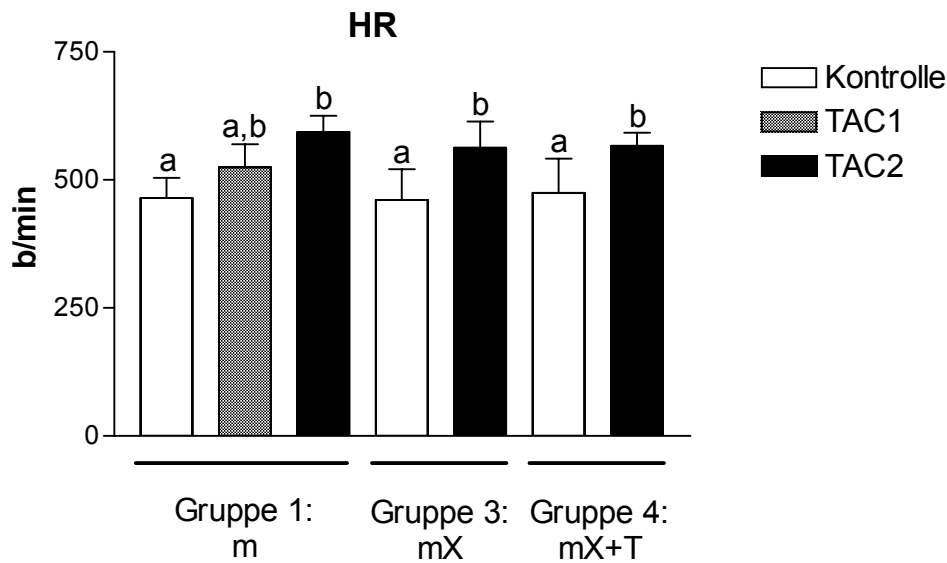


Abbildung 3.24: HR der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der HR zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mx und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

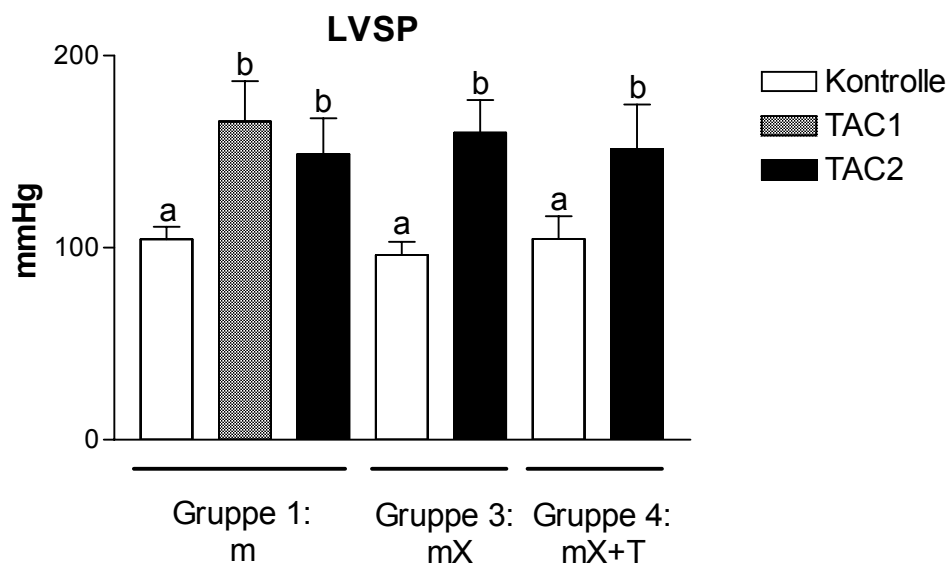


Abbildung 3.25: LVSP der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVSP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mx und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

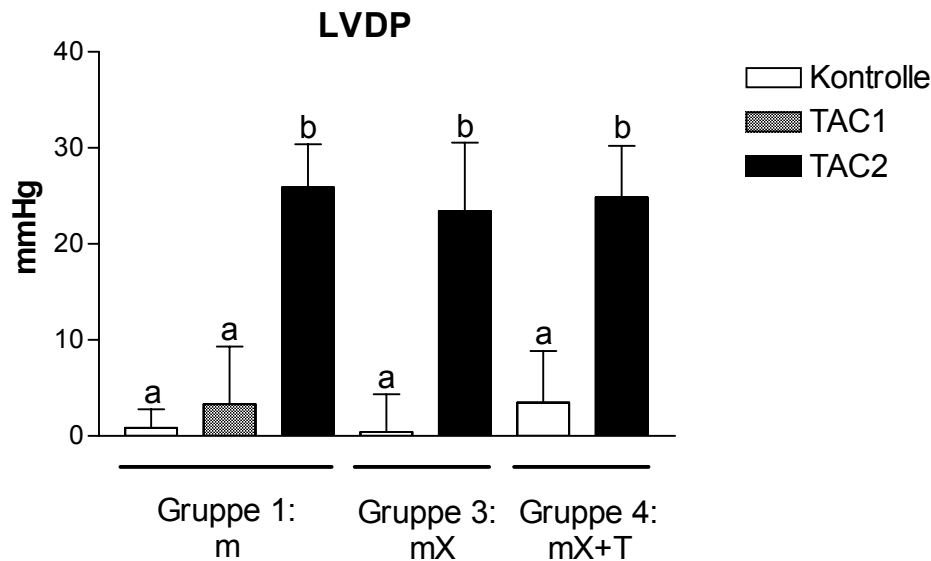


Abbildung 3.26: LVDP der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVDP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mx und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Beim Vergleich der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit der drei Tiergruppen ergaben sich innerhalb der jeweiligen Untergruppen keine signifikanten Unterschiede. Es zeigte sich jedoch eine signifikant bessere Kontraktilität der orchiectomierten, mit Testosteron behandelten Kontrolltiere gegenüber den männlichen unbehandelten TAC-Tieren (Abb. 3.27). Außerdem war eine Tendenz zur besseren Kontraktilität der orchiectomierten Tiere nach TAC im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen vorhanden. Beim Vergleich der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit zeigte sich bei den orchiectomierten Tieren eine Tendenz zur besseren Relaxation nach TAC im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen (Abb. 3.28).

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse wurde deutlich, dass eine Testosteron-Übersubstitution nach Orchiectomie männlicher Tiere die hämodynamische Situation unter Kontrollbedingungen (unbehandelte männliche Tiere) wiederherstellt.

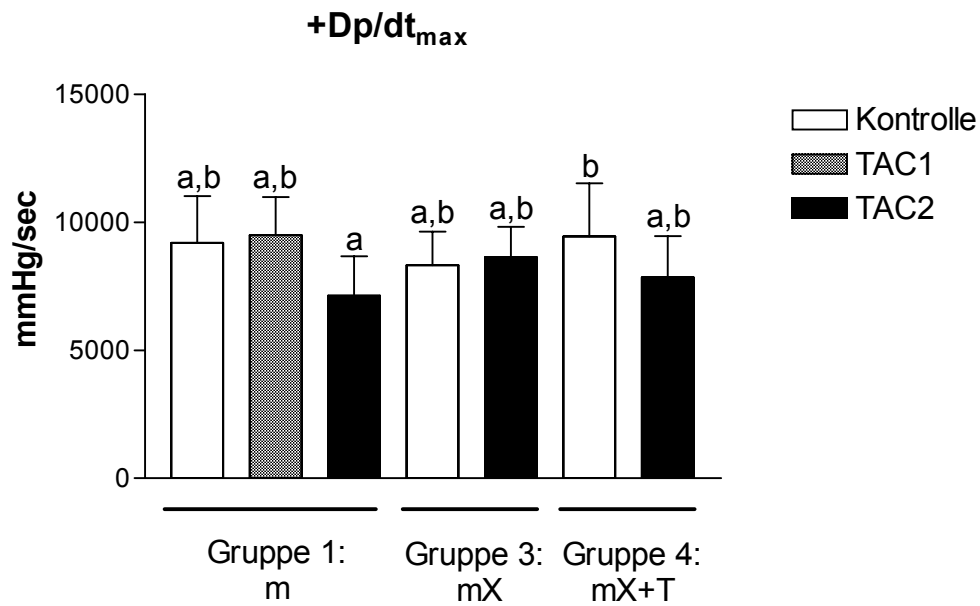


Abbildung 3.27: +Dp/dt_{max} der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des +Dp/dt_{max} zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mx und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

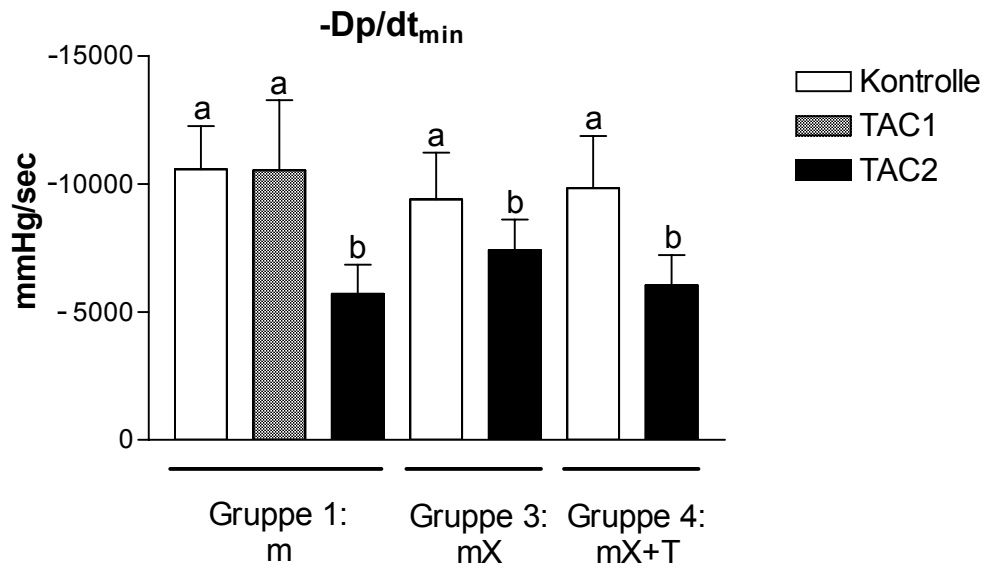


Abbildung 3.28: -Dp/dt_{min} der Gruppen m, mX und mX+T, Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des -Dp/dt_{min} zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mx und mX+T wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.5.3 Gruppen 1, 3, 5 und 6: männliche Tiere, orchietomierte, männliche mit Cyproteronacetat-Applikation und männliche mit Flutamid-Applikation

Im Folgenden wurden die Wirkungen des steroidalen Androgenrezeptor-Antagonisten Cyproteronacetat sowie des nichtsteroidalen Androgenrezeptor-Antagonisten Flutamid untersucht.

Cyproteronacetat gehört zu den Gestagenen und kompetitiert mit Dihydrotestosteron um den Androgenrezeptor.

Flutamid ist ein nicht-steroidaler Androgen-Antagonist ohne agonistische Aktivität, der keine hormonelle Aktivität besitzt.

3.5.3.1 Mortalitätsrate

Bei den Kontrolltieren aus Gruppe 5 (m+Cyp) lag die Mortalitätsrate bei 16 % und die der TAC-Tiere bei 78 %. In Gruppe 6 (m+Flu) starben von den Kontrolltieren 0 % und von den TAC-Tieren 60 %.

Die überlebenden Tiere gingen in die Studien ein. Es waren folgende Tierzahlen:

Gruppe m+Cyp: Kontrolle: n = 5, TAC2: n = 4

Gruppe m+Flu: Kontrolle: n = 8, TAC2: n = 6

3.5.3.2 Körpergewicht und Morphologie der Organe

Die Gruppen m+Cyp und m+Flu wurden jeweils in Kontrolle und TAC2 unterteilt.

Das Körpergewicht der Kontroll- und TAC2-Tiere zeigte in beiden Gruppen 14 Tage nach dem operativen Eingriff keine signifikanten Veränderungen (Gruppe m+Cyp: Kontrolle: von $24,82 \pm 1,55$ g auf $24,32 \pm 2,37$ g, TAC2: von $26,23 \pm 0,96$ g auf $26,75 \pm 6,78$ g; Gruppe m+Flu: Kontrolle: von $23,36 \pm 1,33$ g auf $24,26 \pm 1,27$ g, TAC2: von $24,18 \pm 1,03$ g auf $22,83 \pm 1,72$ g).

Bei den Tieren ohne Druckbelastung (Kontrolltiere) ergab der Vergleich der Organgewichte (LVW, HW, LW) und -parameter (LVW/TL, LVW/BW) zwischen den vier Gruppen keine signifikanten Unterschiede (Tab. 3.7 und 3.8). Allerdings waren hier die Werte der orchietomierten Tiere jeweils tendenziell niedriger als die der 3 Vergleichsgruppen.

Beim Vergleich der Tiere mit Druckbelastung (TAC2) fiel auf, dass die Behandlung mit den Androgen-Antagonisten in beiden Fällen einen gegenteiligen Effekt zur

Ergebnisse

Kastration hatte, was überraschend war. Die Organgewichte und -parameter waren bei den mit Cyproteronacetat behandelten Tieren sogar am höchsten von allen Tieren der gesamten Studie. Die Tiere entwickelten eine frühzeitige dekompensierte Herzinsuffizienz. Der Versuch der Antagonisierung der Testosteronwirkung war also nicht erfolgreich.

14 d nach TAC	LVW (mg)	HW (mg)	LW (mg)
Kontrolle m	77,2 ± 5,0 a	95,8 ± 5,6 a	142,7 ± 12,7 a
Kontrolle mX	70,1 ± 7,1 a	90,5 ± 9,5 a	138,4 ± 9,1 a
Kontrolle m+Cyp	75,7 ± 4,6 a	93,7 ± 4,7 a	142,0 ± 14,1 a
Kontrolle m+Flu	78,4 ± 5,0 a	97,6 ± 7,0 a	154,0 ± 21,8 a
TAC1 m	111,5 ± 11,4	129,5 ± 12,2	183,4 ± 49,
TAC2 m	123,9 ± 9,0 a	146,4 ± 9,8 a	312,5 ± 74,2 a
TAC2 mX	108,4 ± 14,0 b	128,3 ± 17,0 b	256,9 ± 80,6 a
TAC2 m+Cyp	143,8 ± 8,6 c	173,7 ± 8,7 c	460,7 ± 72,8 b
TAC2 m+Flu	128,6 ± 3,3 a, c	153,0 ± 1,8 a, c	327,6 ± 46,5 a

Tabelle 3.7: LVW, HW und LW der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen. Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW, HW, LW) mittels einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey wurde zwischen den horizontal zusammengefassten Gruppen durchgeführt.

Ergebnisse

Die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes nach TAC bei den Tieren aus Gruppe m+Cyp lag bei $+ 90 \pm 6 \%$ und war die ausgeprägteste Adaptionshypertrophie nach Druckbelastung von allen Gruppen der gesamten Arbeit. Die LVW-Zunahme bei den Tieren aus Gruppe m+Flu war nur geringfügig stärker ($64 \pm 3 \%$) als bei den TAC2-Tieren aus Gruppe m ($60 \pm 7 \%$). Die Flutamid-Gabe schien also kaum einen Einfluss auf die Entwicklung einer Druckbelastungshypertrophie zu haben.

14 d nach TAC	LVW/TL (mg/mm)	LVW/BW (mg/g)
Kontrolle m	$4,4 \pm 0,3 \text{ a}$	$3,1 \pm 0,1 \text{ a}$
Kontrolle mX	$4,0 \pm 0,3 \text{ a}$	$2,9 \pm 0,2 \text{ a}$
Kontrolle m+Cyp	$4,2 \pm 0,2 \text{ a}$	$3,1 \pm 0,2 \text{ a}$
Kontrolle m+Flu	$4,4 \pm 0,2 \text{ a}$	$3,2 \pm 0,1 \text{ a}$
TAC1 m	$6,4 \pm 0,6$	$4,73 \pm 0,5$
TAC2 m	$7,1 \pm 0,4 \text{ a}$	$5,8 \pm 0,4 \text{ a}$
TAC2 mX	$6,1 \pm 0,7 \text{ b}$	$4,8 \pm 0,8 \text{ b}$
TAC2 m+Cyp	$8,0 \pm 0,5 \text{ c}$	$5,7 \pm 1,7 \text{ a, b}$
TAC2 m+Flu	$7,3 \pm 0,2 \text{ a, c}$	$5,7 \pm 0,3 \text{ a, b}$

Tabelle 3.8: LVW/TL und LVW/BW der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu

Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen. Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW/TL, LVW/BW) mittels einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey wurde zwischen den horizontal zusammengefassten Gruppen durchgeführt.

3.5.3.3 Hämodynamik

Beim Vergleich des systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Druckes zwischen den Gruppen fiel auf, dass auch hier die Gabe der beiden Androgen-Antagonisten bei den Kontrolltieren einen jeweils gegenteiligen Effekt zur Kastration hatte. Die orchiektomierten Kontrolltiere hatten einen tendenziell geringeren SAP, DAP und MABP als die intakten männlichen Tiere. Die Gabe von Cyproteronacetat führte bei den Kontrolltieren zu einem signifikanten Anstieg des diastolischen und des mittleren arteriellen Blutdruckes (DAP und MABP, Abb. 3.30 und 3.31). Ähnliches, wenn auch schwächer ausgeprägt, war nach Flutamid-Gabe zu beobachten.

Bei den druckbelasteten Tieren waren hier keine Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen.

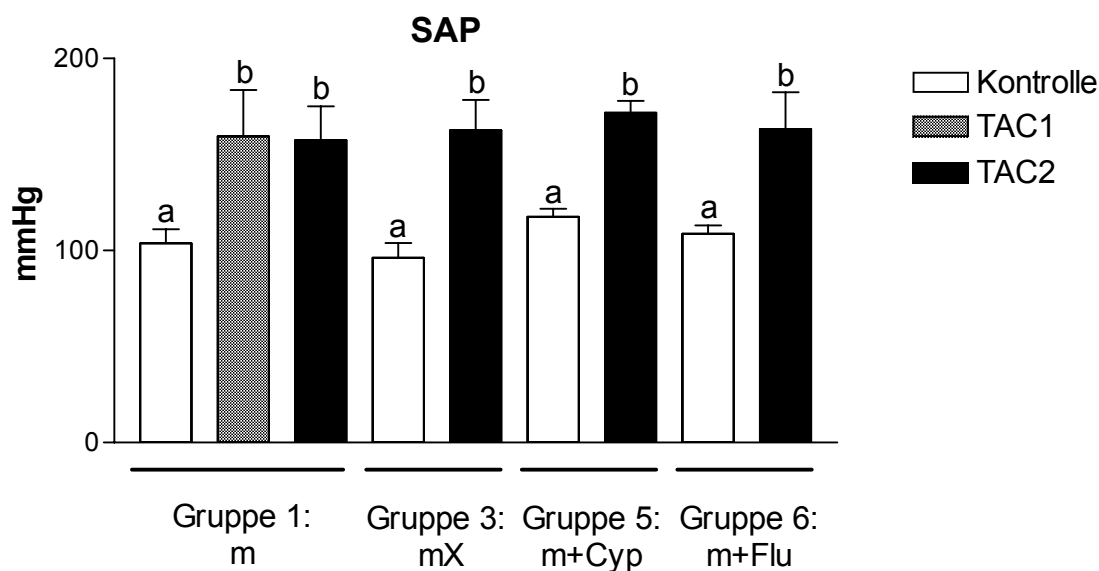


Abbildung 3.29: SAP der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des SAP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

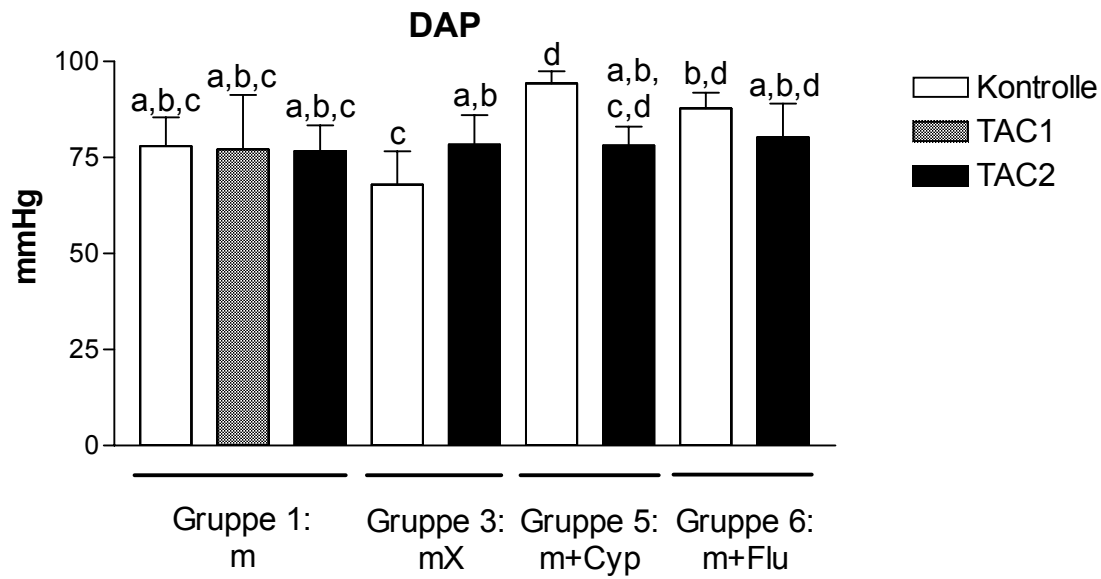


Abbildung 3.30: DAP der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des DAP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

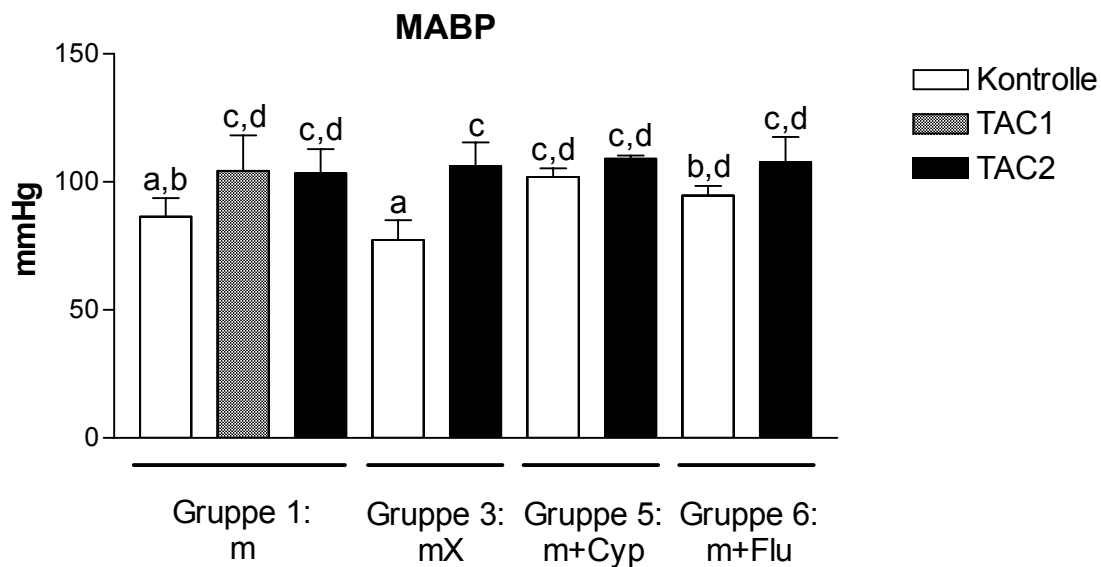


Abbildung 3.31: MABP der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des MABP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Beim Vergleich der Herzfrequenz zwischen den Untergruppen waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen (Abb. 3.32).

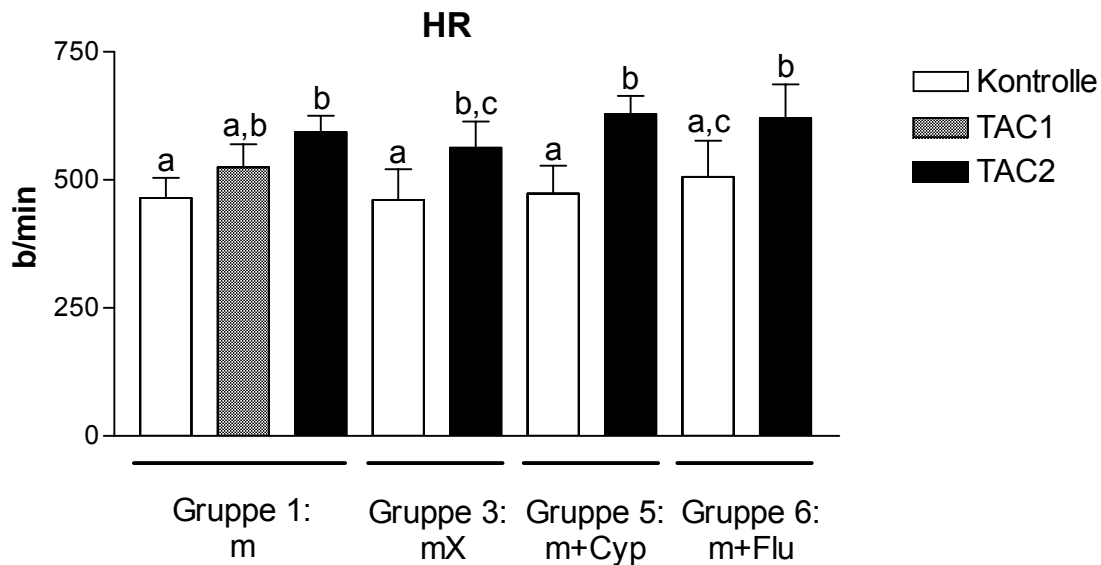


Abbildung 3.32: HR der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der HR zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Der linksventrikuläre systolische und diastolische Druck (LVSP und LVDP) zeigten im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.33, 3.34). der LVDP der TAC-Tiere war jedoch bei den mit Cyproteronacetat behandelten Tieren tendenziell am höchsten. Auffällig war außerdem, dass bei den mit Cyproteronacetat bzw. Flutamid behandelten Kontrolltieren der linksventrikuläre diastolische Druck deutlich , wenn auch nicht signifikant höher war, als bei intakten bzw. bei den orchiektomierten männlichen Tieren.

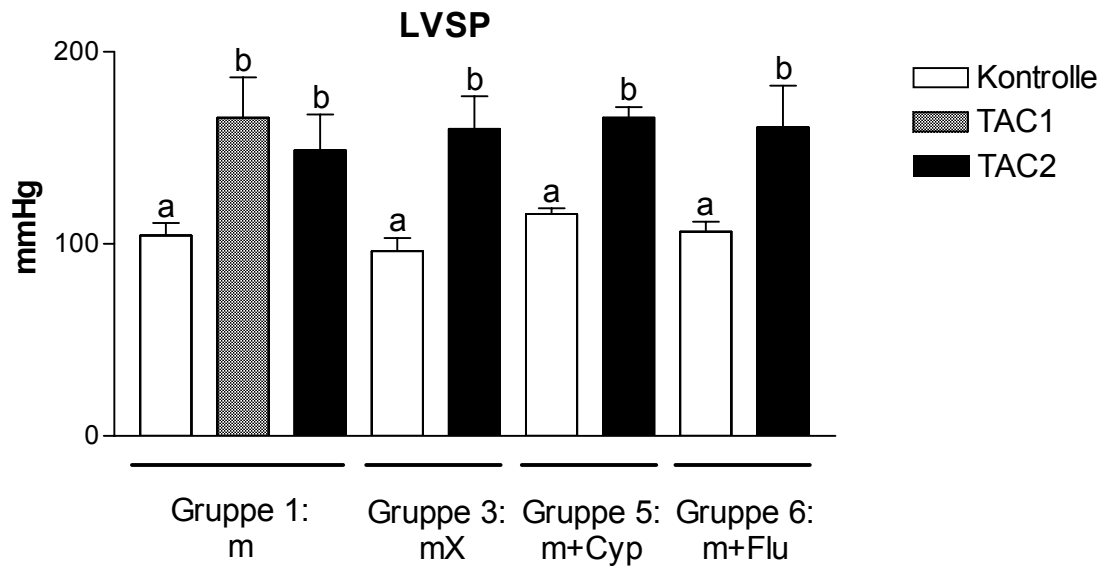


Abbildung 3.33: LVSP der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVSP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

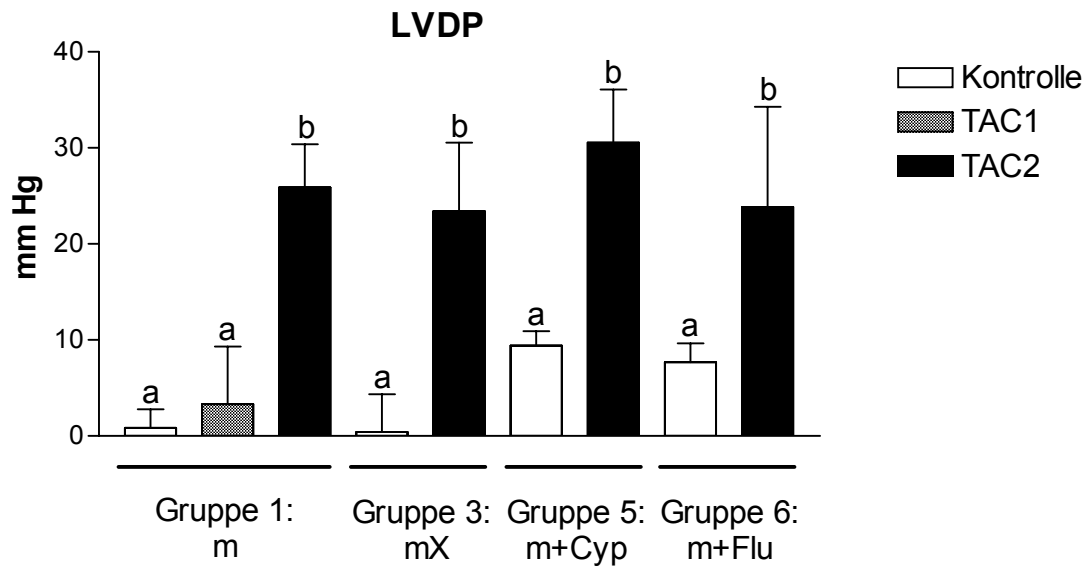


Abbildung 3.34: LVDP der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVDP zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Beim Gruppenvergleich der maximalen Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.35, 3.36).

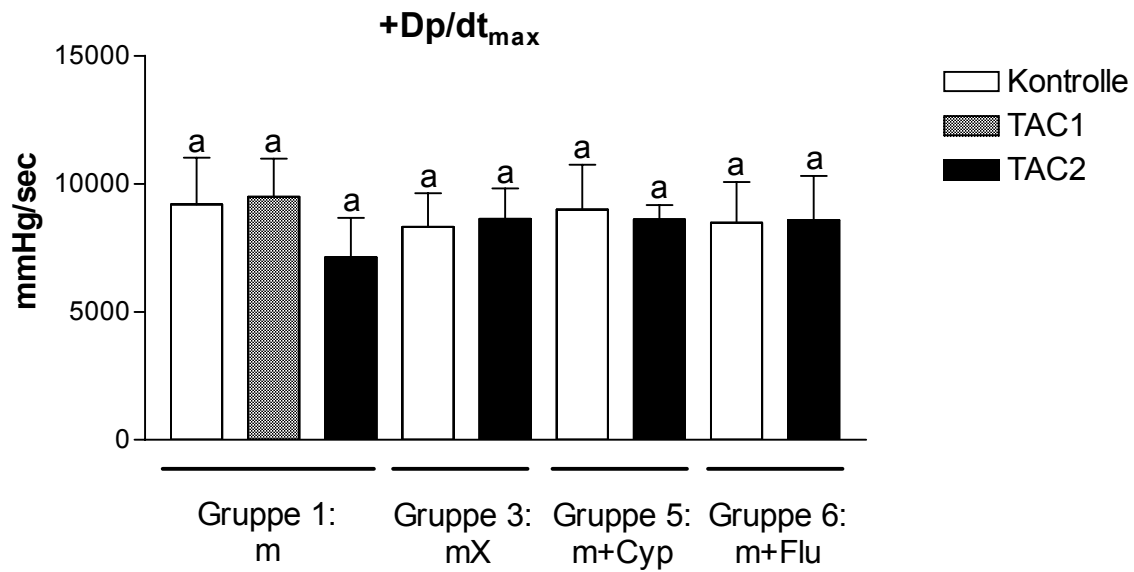


Abbildung 3.35: +Dp/dt_{max} der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des +Dp/dt_{max} zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Ergebnisse

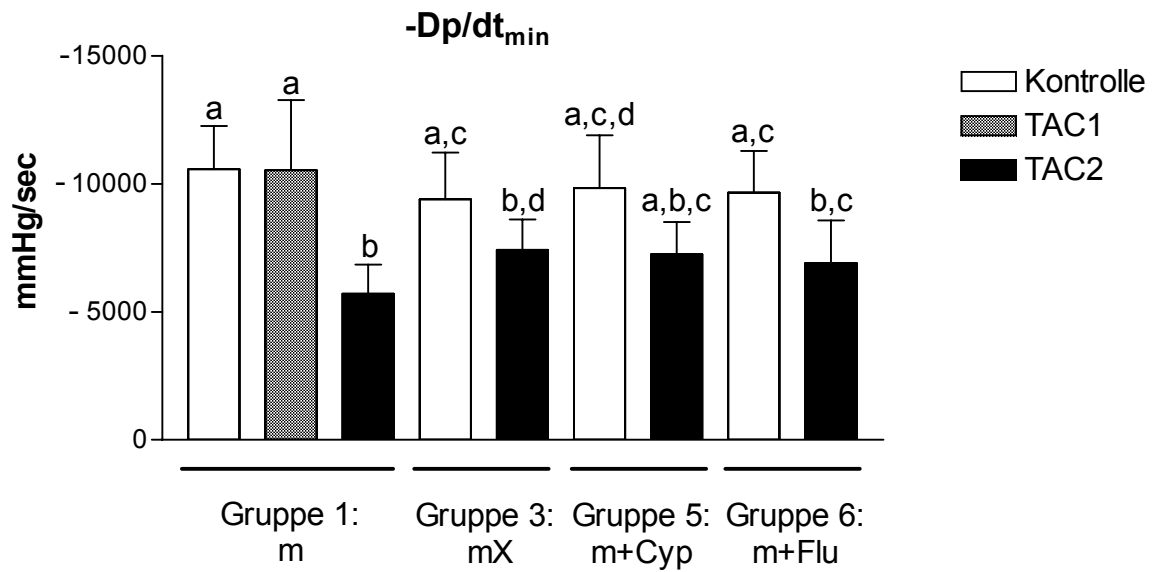


Abbildung 3.36:- Dp/dt_{min}: der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu,

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des -Dp/dt_{min} zwischen den Untergruppen der Gruppen m, mX, m+Cyp und m+Flu wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

3.5.4 Gruppen 2, 7 und 8: weibliche Tiere, ovariectomized und ovariectomized mit Östrogen-Übersubstitution

3.5.4.1 Mortalitätsrate

In Gruppe 7 (wX) betrug die Mortalitätsrate bei den Kontrolltieren 14 % und bei den TAC-Tieren 68 %. Bei den Kontrolltieren aus Gruppe 8 (wX+Ö) lag die Mortalitätsrate bei 0 % und bei den TAC-Tieren dieser Gruppe bei 83 %.

Die überlebenden Tiere gingen in die Studien ein. Es waren folgende Tierzahlen:

Gruppe wX: Kontrolle: n = 6, TAC2: n = 8

Gruppe wX+Ö: Kontrolle: n = 4, TAC2: n = 3

3.5.4.2 Körpergewicht und Morphologie der Organe

Die Gruppen 7 (wX) und 8 (wX+Ö) wurden jeweils in Kontrolle und TAC2 eingeteilt.

In Gruppe wX blieb das Körpergewicht der Kontrolltiere innerhalb der 14 Tage nach dem Eingriff in etwa konstant (von $21,77 \pm 2,11$ g auf $21,25 \pm 2,07$ g), in Gruppe wX+Ö war eine leichte Zunahme festzustellen (von $19,63 \pm 1,89$ g auf $21,63 \pm 0,49$ g). Bei den TAC2-Tieren aus den Gruppen wX und wX+Ö war eine leichte Abnahme des BW festzustellen (Gruppe wX: von $20,53 \pm 1,38$ g auf $18,66 \pm 2,76$ g; Gruppe wX+Ö: von $21,60 \pm 1,05$ g auf $19,83 \pm 4,04$ g, n. s.)

Der Vergleich der Organgewichte (LVW, HW, LW) und -parameter (LVW/TL, LVW/BW) zwischen den Kontrolltieren der Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Tab. 3.9, 3.10).

Bei den druckbelasteten Tieren führte die Ovariectomie zu einem signifikant niedrigerem Herzgewicht (LVW, HW, LVW/TL) im Gruppenvergleich. Die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes nach Druckbelastung lag hier bei $+49 \pm 11\%$.

Bei den intakten Tieren lag die LV-Zunahme nach TAC bei $+86 \pm 8\%$ (TAC2) und bei den mit Östrogen übersubstituierten Tieren war sie mit $+90 \pm 12\%$ noch deutlich ausgeprägter.

Ergebnisse

14 d nach TAC	LVW (mg)	HW (mg)	LW (mg)
Kontrolle w	68,7 ± 6,4 a	85,5 ± 7,6 a	145,2 ± 11,5 a
Kontrolle wX	69,3 ± 5,8 a	86,9 ± 7,4 a	152,8 ± 12,9 a
Kontrolle wX+Ö	61,7 ± 5,9 a	77,3 ± 6,6 a	177,9 ± 69,6 a
TAC1 w	116,0 ± 10,8	133,5 ± 14,9	215,5 ± 85,5
TAC2 w	128,1 ± 10,6 a	151,0 ± 11,2 a	331,5 ± 87,0 a
TAC2 wX	103,1 ± 11,4 b	122,0 ± 15,5 b	321,4 ± 128,5 a
TAC2 wX+Ö	117,2 ± 14,0 a, b	138,3 ± 15,1 a,b	367,6 ± 46,3 a

Tabelle 3.9: LVW, HW und LW der Gruppen w, wX und wX+Ö,

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen. Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (LVW, HW, LW) mittels einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey wurde zwischen den horizontal zusammengefassten Gruppen durchgeführt.

Alle Östrogen-Übersubstituierten Tiere hatten ein massiv erhöhtes Uterusgewicht (UW, Tab. 3.10). Außerdem war bei diesen Tieren der Uterus hochgradig mit mukösem Inhalt gefüllt. Die ovariectomierten Tiere hingegen zeigten eine deutliche Uterusatrophie mit verringertem Uterusgewicht.

Ergebnisse

14 d nach TAC	UW (mg)	LVW/TL (mg/mm)	LVW/BW (mg/g)
Kontrolle w	117,7 ± 19,1 a	3,9 ± 0,2 a	3,1 ± 0,2 a
Kontrolle wX	70,6 ± 29,1 a	4,0 ± 0,3 a	3,3 ± 0,2 a
Kontrolle wX+Ö	301,6 ± 172,5 b	3,6 ± 0,4 a	2,9 ± 0,3 a
TAC1 w	115,2 ± 21,7	6,5 ± 0,6	4,9 ± 0,7
TAC2 w	118,3 ± 3,6 a, b	7,2 ± 0,5 a	5,6 ± 0,4 a
TAC2 wX	40,0 ± 10,4 b	5,9 ± 0,7 b	5,6 ± 0,9 a
TAC2 wX+Ö	244,3 ± 19,4 a	6,8 ± 0,8 a, b	6,0 ± 0,7 a

Tabelle 3.10: UW, LVW/TL und LVW/BW der Gruppen w, wX und wX+Ö,

Angaben: MW ± SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen. Ein statistischer Vergleich der jeweiligen Parameter (UW, LVW/TL, LVW/BW) mittels einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey wurde zwischen den horizontal zusammengefassten Gruppen durchgeführt.

3.5.4.3 Hämodynamik

Der Vergleich des systolischen und des mittleren arteriellen Druckes zwischen den Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.37, MABP nicht dargestellt). Auffällig war jedoch, dass die Ovariectomie bei den nicht druckbelasteten Tieren bereits zu einem signifikanten Anstieg des diastolischen arteriellen Druckes führte (Abb. 3.38).

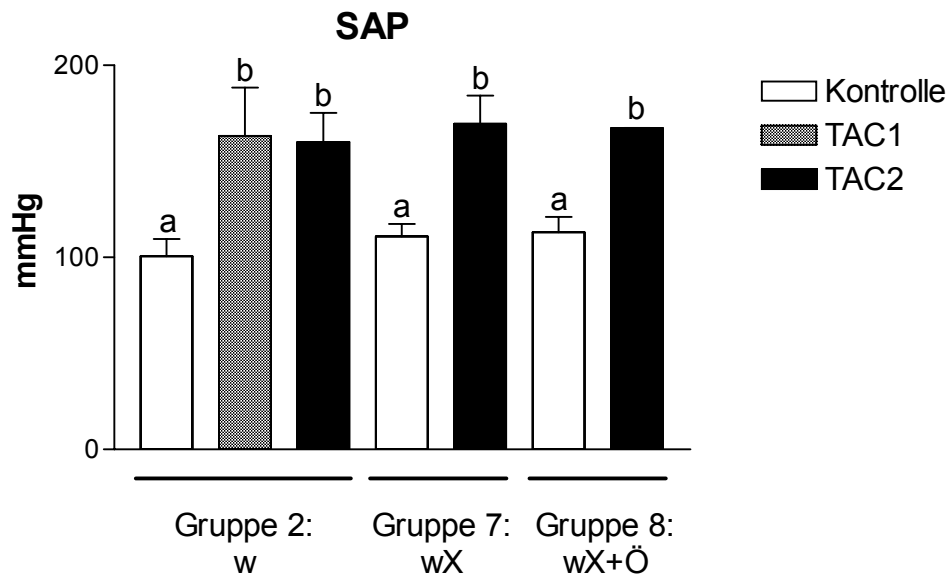


Abbildung 3.37: SAP der Gruppen w, wX und wX+Ö, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des SAP zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

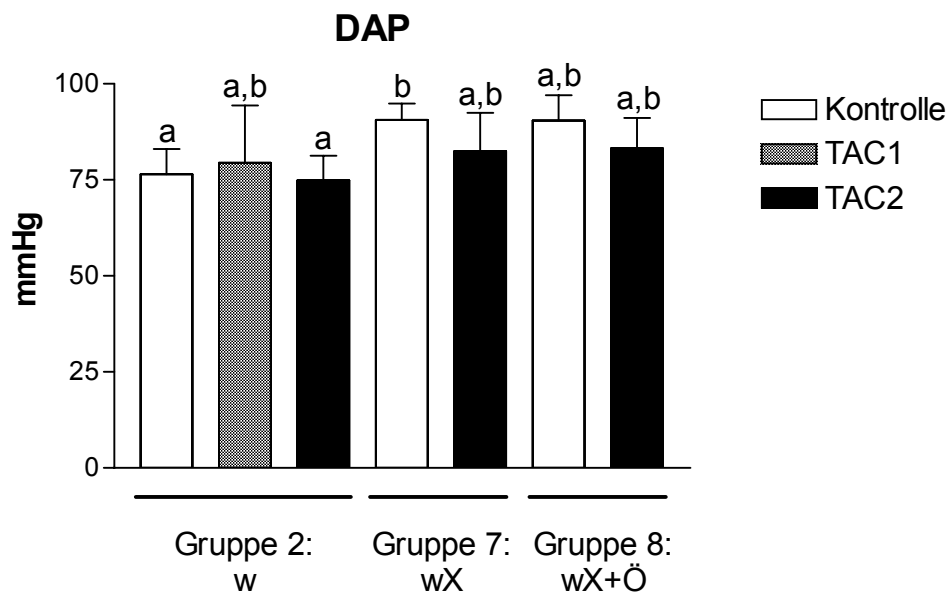


Abbildung 3.38: DAP der Gruppen w, wX und wX+Ö, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des DAP zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Ergebnisse

In Gruppe wX+Ö bei TAC2 konnte nur ein Tier in die Hämodynamik-Statistik eingehen, da die beiden anderen übrig gebliebenen Tiere dieser Gruppe während der Herzkathetermessung gestorben waren. Aus diesem Grund wird diese Gruppe in den folgenden Grafiken nicht dargestellt.

Der Vergleich der Herzfrequenz und des linksventrikulären systolischen Druckes zwischen den Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.39, 3.40). Der linksventrikuläre diastolische Druck der nicht druckbelasteten Tiere war jedoch bei den voroperierten Tieren (Gruppen wX und wX+Ö) signifikant höher als bei der Gruppe der intakten weiblichen Tiere (Abb. 3.41).

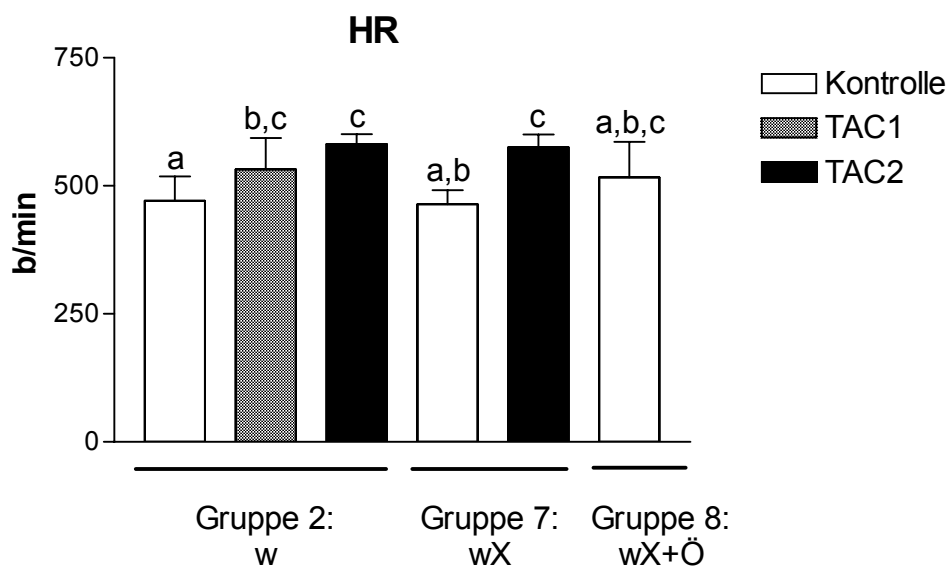


Abbildung 3.39: HR der Gruppen w, wX und wX+Ö, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich der HR zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

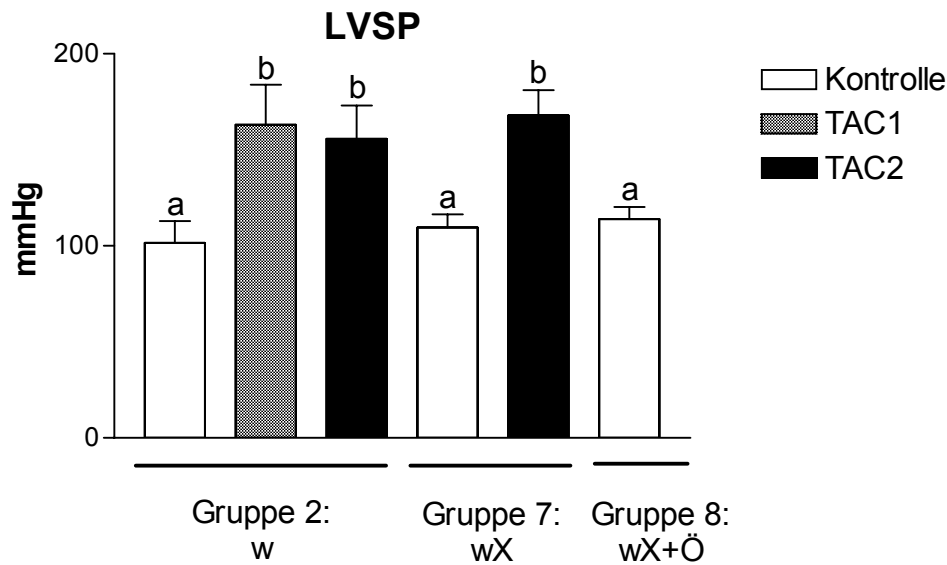


Abbildung 3.40: LVSP der Gruppen w, wX und wX+Ö, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVSP zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

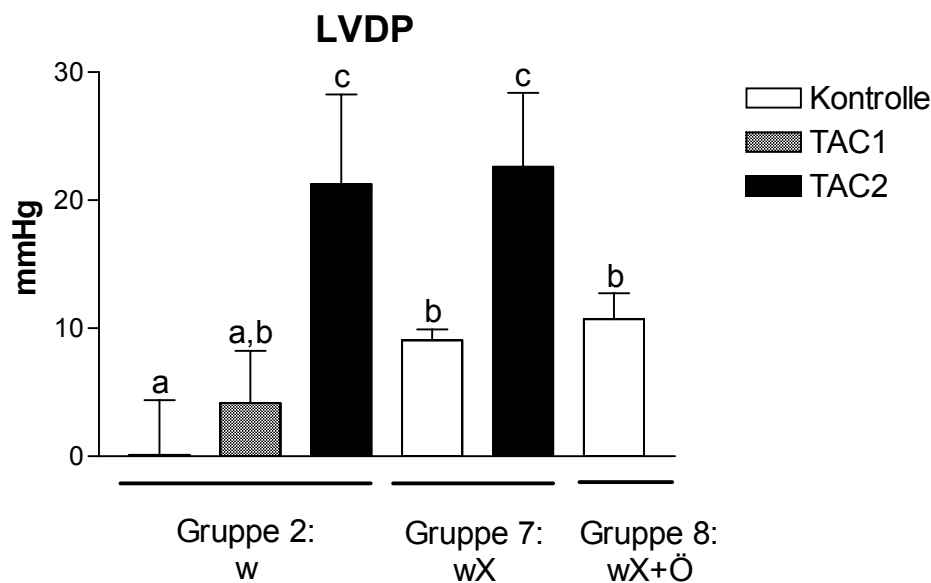


Abbildung 3.41: LVDP der Gruppen w, wX und wX+Ö, Angaben: MW \pm SD

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des LVDP zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

Ergebnisse

Beim Vergleich der maximalen Druckerstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit zwischen den Gruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.42, 3.43).

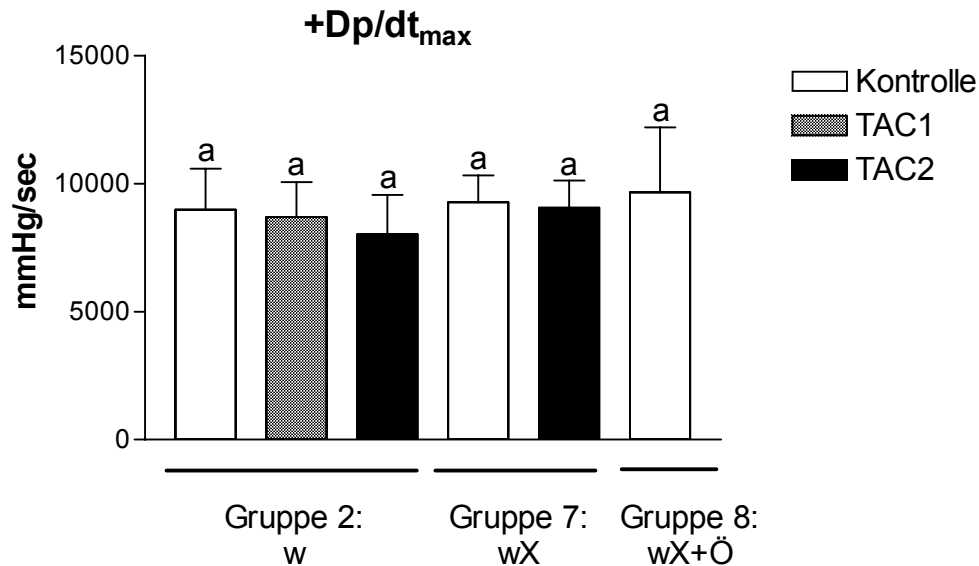


Abbildung 3.42: $+Dp/dt_{max}$ der Gruppen w, wX und wX+Ö (Angaben: $MW \pm SD$)

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Ein statistischer Vergleich des $+Dp/dt_{max}$ zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

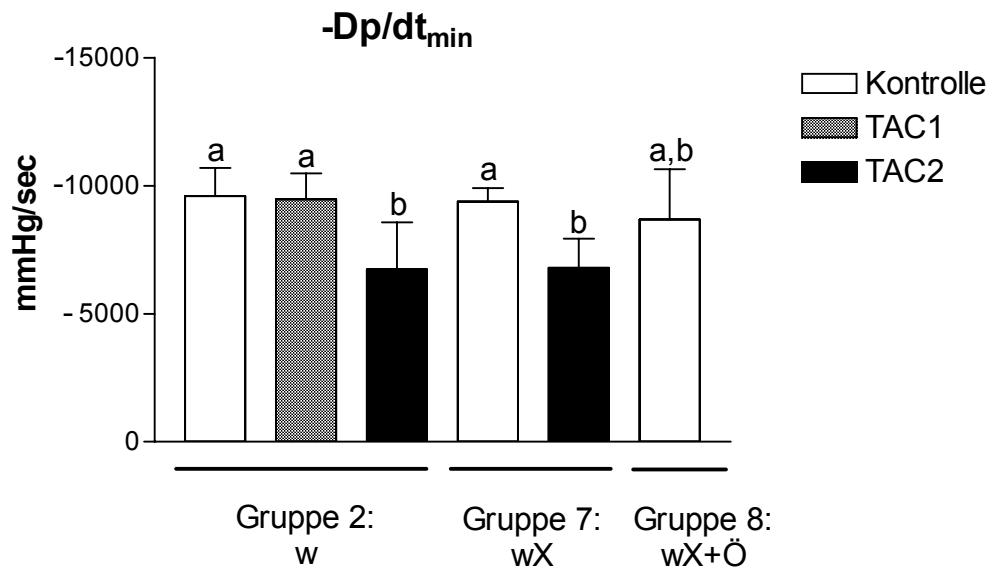


Abbildung 3.43: -Dp/dt_{min} der Gruppen w, wX und wX+Ö (Angaben: MW ± SD; a: p < 0,01 vs. TAC1 w)

Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (p < 0,05). Ein statistischer Vergleich des -Dp/dt_{min} zwischen den Untergruppen der Gruppen w, wX und wX+Ö wurde mit einfaktorieller ANOVA und post hoc Test nach Tukey durchgeführt.

4 Diskussion

4.1 Pathophysiologie des Herzens nach Aortenkonstriktion

4.1.1 Akute Beeinflussung der kardialen Funktion nach transverser aortaler Konstriktion

Nach experimenteller transverser aortaler Konstriktion (TAC) kommt es zur akuten Drucksteigerung im prästenotischen Bereich, das heißt in linkem Ventrikel, Aorta ascendens, Truncus brachiocephalicus sowie nachfolgenden Bereichen, mit gleichzeitiger arterieller Druckabnahme im poststenotischen Bereich (A. carotis communis dextra, Aorta descendens und nachfolgende Bereiche).

Rockman und Kollegen haben den Druckunterschied nach TAC bei Mäusen zwischen rechter und linker Arteria carotis communis gemessen und dabei einen stabilen Druckgradienten von 35 - 45 mmHg ermittelt (Rockman et al., 1993). Andere Autoren ermittelten sogar einen Druckunterschied von 50 mmHg (Fard et al., 2000).

Bei gleich bleibender Herztätigkeit führt der erhöhte periphere Widerstand zunächst zur Abnahme des Schlagvolumens des Herzens, wodurch es nach und nach zur Zunahme des linksventrikulären enddiastolischen Füllungsvolumens (LVEDV) und zur passiven Dehnung der Herzmuskelfasern kommt. Die Zunahme des LVEDV resultiert in einer exponentiellen Zunahme des linksventrikulären enddiastolischen Druckes (LVEDP) und nach dem LaPlace-Gesetz ($T = p \times r/2d$, T = enddiastolische Wandspannung, p = intraventrikulärer Druck, r = Radius, d = Wanddicke des linken Ventrikels) in einer Erhöhung der enddiastolischen Wandspannung (Vorlast).

Die Erhöhung der Vorlast führt durch intrakardiale Anpassung zu einer Erhöhung der bei der Auswurf-tätigkeit entwickelten Kontraktionskraft des Ventrikels. Dieser Vorgang wird als Frank-Starling-Mechanismus bezeichnet. Das Herz ist so autoregulativ in der Lage, eine vermehrte diastolische Füllung durch den Auswurf eines größeren Schlagvolumens zu bewältigen bzw. bei einem erhöhten Auswurf-widerstand ein normales Schlagvolumen zu befördern.

Ein weiterer Mechanismus zur Anpassung an erhöhte Belastungen ist die Zunahme der Kontraktionstätigkeit des Ventrikels an sich. Es handelt sich hierbei um eine extrakardiale Anpassung durch Aktivierung des Sympathikus, unabhängig von der Vordehnung der Muskelfasern. Neben der Verkürzung der Zeit bis zum Erreichen

des Kontraktionsmaximums (positive Inotropie) nimmt auch die Relaxationsgeschwindigkeit zu (positive Lusitropie). Als Maß für die Kontraktilität gilt in vivo die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($+Dp/dt_{\max}$) und die Auswurffraktion des Herzens. Die Relaxationsgeschwindigkeit ist ein Maß für die passive Dehnbarkeit des Ventrikels und wird als maximale Druckabfallsgeschwindigkeit ($-Dp/dt_{\min}$) gemessen. Auch die sympathische Erhöhung der Herzfrequenz (HR) bei Belastung stellt einen Anpassungsmechanismus zur Erhaltung des Herz-Minutenvolumens dar (Forth et al., 1998, Thews et al., 1989, Thews et al., 1997).

Die beschriebenen Anpassungsmechanismen erklären die in der vorliegenden Arbeit gemessenen akuten Veränderungen der Hämodynamik nach TAC. Der linksventrikuläre systolische Druck (LVSP) steigt sofort nach der Konstriktion stark an und bleibt konstant hoch. Dies konnten auch Hu und Kollegen in ihren Studien beobachten (Hu et al., 2003). Der linksventrikuläre diastolische (LVDP) steigt ebenfalls sofort an, um nach autoregulativer Erhöhung des Herzschlagvolumens wieder etwas abzufallen. Die maximale Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit ($+Dp/dt_{\max}$ und $-Dp/dt_{\min}$) fällt während der Konstriktion stark ab. Durch den kurzzeitigen (etwa 30 sec) vollständigen Verschluss der Aorta während der Operation kontrahiert der Ventrikel ein paar Schläge lang ausschließlich isovolumetrisch, was den Druckanstieg und -abfall bei den nachfolgenden Herzschlägen zunächst abschwächt. Nach dem Entfernen der Konstriktionskanüle aus dem Konstriktionsknoten wird das Aortenlumen mit um ca. 70 % verringertem Durchmesser wieder geöffnet. Nach Aktivierung der intra- und extrakardialen Anpassungsmechanismen wird die Herzarbeit an die neue Situation angepasst. HR und LVDP fallen wieder etwas ab und die maximale Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit nimmt wieder zu.

Walston und Kollegen konnten die akuten Vorgänge nach TAC bei Hunden beobachten. Sie stellten unmittelbar nach Aortenkonstriktion eine Erhöhung des LVDP und eine Abnahme des Schlagvolumens des Herzens fest. 30 Sekunden später war bereits eine kontraktile Anpassung mit Abnahme des LVDP und Zunahme des Schlagvolumens zu beobachten (Walston et al., 1978). Diese positiv inotrope Antwort des Ventrikels wird in verschiedenen Studien als homeometrische Autoregulation (HAR) oder Anrep-Effekt bezeichnet (Nichols et al., 1988).

Mit der Frage, ob die Aortenkonstriktion zur verminderten zerebralen und peripheren Perfusion führt, hat sich die Arbeitsgruppe um Li befasst. Mittels nichtinvasiver Doppler-Messungen an den Tagen 1 und 7 nach TAC bei Mäusen wurden keine signifikanten Unterschiede in der mittleren Blutflussgeschwindigkeit zwischen linker und rechter A. carotis sowie zwischen Aorta ascendens und Aorta abdominalis gemessen. Es war aber auch hier ein Druckunterschied von etwa 10 - 50 mmHg zwischen den Bereichen vor und nach Stenose vorhanden. Die Autoren schließen aus diesen Messungen, dass die zerebrale und periphere Perfusion nach TAC in annähernd normalen Bereichen gehalten wird (Li et al., 2003).

4.1.2 Chronische Auswirkungen der TAC

4.1.2.1 Mortalität

Die Mortalität innerhalb von 14 Tagen nach TAC bei nicht vorbehandelten Tieren liegt laut Literatur bei etwa 30 % (Liao et al., 2002), innerhalb von 20 Tagen bei etwa 39 % (Nakamura et al., 2001). In der vorliegenden Arbeit beträgt sie bei nicht vorbehandelten Tieren 23 - 32%, d. h., die Eingriffe wurden fachgerecht durchgeführt und diese Studie ist methodisch mit anderen vergleichbar.

Voroperierte Tiere haben nach TAC eine deutlich erhöhte Sterblichkeit. Dies mag zum einen an der Belastung durch die zweite Operation liegen, zum anderen auf die Auswirkung der verabreichten Wirkstoffe zurückzuführen sein.

4.1.2.2 Herzmorphologie und Hämodynamik

Durch die Verengung der Aorta transversalis auf ca. 30 % des ursprünglichen Lumens ist der linke Ventrikel einer dauerhaft erhöhten Druckbelastung ausgesetzt. Im Bereich der Aorta ascendens (prästenotisch) sowie im linken Ventrikel liegen in der vorliegenden Arbeit bei allen TAC-Tieren dauerhaft erhöhte systolische Druckwerte vor. Der diastolische Druck ist bei den TAC2-Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren linksventrikulär deutlich erhöht, im Bereich der Aorta ascendens jedoch unverändert bzw. sogar leicht erniedrigt. Eine Messung des systemischen Blutdruckes wurde hier nicht durchgeführt, eine Veränderung nach TAC ist aber laut Literatur nicht zu beobachten (Liao et al., 2002).

Die Druckbelastung im Herzen führt zur adaptiven Herzhypertrophie mit zunächst verbessertem kontraktilen Status des Ventrikels (Nakamura et al., 2001). Die

Funktionsverbesserung nimmt mit der Entwicklung der konzentrischen Hypertrophie zu. Durch die dauerhafte Druckbelastung kommt es nach einiger Zeit jedoch zu Funktionseinbußen beim Herzen. Zunächst entwickelt sich eine eingeschränkte Relaxation des linken Ventrikels im Sinne einer diastolischen Dysfunktion mit deutlich verringerter Druckabfallsgeschwindigkeit. Takaoka und Kollegen beschreiben in ihren Studien schon nach 7 Tagen einen signifikanten Abfall der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit (Takaoka et al., 2002). Dies ist u. a. durch eine sich entwickelnde Myokardfibrose zu erklären. Die Folge ist eine eingeschränkte Compliance (linksventrikuläre Dehnbarkeit), wodurch bereits eine normale diastolische Füllung hohe linksventrikuläre Drücke (LVDP) bedingt.

Nach einiger Zeit entwickelt sich eine mechanisch bedingte Herzinsuffizienz. Beim Vorliegen dauerhaft erhöhter Füllungsdrücke im Herzen (LVDP), wie in den dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen der Fall, spricht man in jedem Fall von einer Herzinsuffizienz (Forth et al., 1998, Hierholzer et al., 1991). Solange durch die beschriebenen Regulationsmechanismen die Förderleistung des Herzens ausreichend erhalten werden kann, nennt man den Zustand kompensierte Herzinsuffizienz. Beim Übergang in den Zustand der dekompenzierten Herzinsuffizienz kommt es zu zunehmenden kontraktilen Funktionseinbußen (Absinken der Druckanstiegsgeschwindigkeit), welche eine verminderte Auswurfleistung im Sinne einer systolischen Dysfunktion zur Folge haben (Liao et al., 2002). Beim Übergang in den dekompenzierten Zustand entwickelt sich neben der systolischen Dysfunktion auch eine Dilatation des linken Ventrikels im Sinne eines exzentrischen Umbaus (Marano et al., 2003). In diesem Zustand steigt der diastolische Ventrikeldruck weiter an (Thews et al., 1989). Die verminderte Auswurfleistung des insuffizienten Herzens führt u. a. zu einem Rückstau in den kleinen Kreislauf und dadurch zum Lungenödem.

In dieser Studie konnte ich den Grad der Herzbelastung der Tiere nach 14-tägiger Aortenkonstriktion durch Messung von HR, LVSP und LVDP, maximaler Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit sowie der Erfassung der Organgewichte von Herz und Lunge beurteilen. Der Parameter linker Ventrikel / Tibiallänge erschien hier zuverlässiger als linker Ventrikel / Körpergewicht, da sich das Körpergewicht zum einem geschlechtsspezifisch unterschiedlich entwickelt, zum

anderen durch den klinischen Status der Tiere beeinflusst werden kann. Das Tibialängenwachstum hingegen entwickelt sich bei beiden Geschlechtern gleich und nimmt ab dem 70. Postnataltag (P70) kaum noch zu (Tiemann et al., 2003).

In meinen Untersuchungen waren die Veränderungen des Körpergewichtes (BW) innerhalb der 14 Tage nach dem Eingriff bei den einzelnen Gruppen sehr unterschiedlich. Generell war aber bei den TAC-Tieren eine Tendenz zur Gewichtsabnahme und bei den Kontrolltieren eine Tendenz zur Gewichtszunahme im Sinne einer normalen körperlichen Entwicklung festzustellen. Die Beeinflussung des BW ist in jedem Fall ein Hinweis auf den klinischen Allgemeinzustand der operierten Tiere.

Einige typische morphologische und funktionelle Veränderungen des Herzens nach chronischer Druckbelastung waren in meiner Arbeit bei allen Gruppen signifikant gegenüber den Kontrollgruppen. Die TAC2-Tiere zeigten im Vergleich zu den Kontrolltieren massiv erhöhte Gewichte des linken Ventrikels, des Gesamtherzens und der Lunge. Die Parameter LVW/TL und LVW/BW waren ebenfalls bei den TAC2-Tieren aller Gruppen stark erhöht. Histologisch war bei den TAC2-Tieren eine deutliche Zunahme der linksventrikulären Wanddicke (sowohl freie Wand als auch Septum) sowie eine Zunahme an interstitiellem und perivaskulärem Bindegewebe zu erkennen. Bei den Messungen mittels Herzkatheter waren Herzfrequenz, LVSP und LVDP der TAC2-Tiere deutlich erhöht. Die Kontraktionsgeschwindigkeit war bei diesen Tieren leicht verringert und die Relaxationsgeschwindigkeit stark vermindert.

Bei den TAC1-Tieren, welche bei den nicht vorbehandelten Tieren nach Druckbelastung jeweils etwa 50 % ausmachten, waren diese Veränderungen nur in Ansätzen zu erkennen. Die Tiere zeigten ebenfalls eine signifikante Erhöhung von LVW und HW, welche aber weitaus weniger ausgeprägt war als bei den TAC2 Tieren. Das Lungengewicht war leicht, jedoch nicht signifikant erhöht, was auf eine weitgehend kompensierte Herzbelastung hinweist. Funktionsparameter des Herzens wie LVDP, maximale Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit blieben bei den TAC1-Tieren weitgehend unbeeinflusst.

4.2 Die geschlechtsspezifische Entwicklung der Druckbelastungs-Hypertrophie nach Aortenkonstriktion

Bei intakten männlichen und weiblichen Tieren war eine Unterteilung in zwei TAC-Gruppen notwendig. Nur etwa 50 % der Tiere beider Geschlechter zeigte nach Druckbelastung eine verschlechterte kardiale Funktion durch einen signifikant erhöhten linksventrikulären diastolischen Druck und eine signifikant verringerte maximale Druckabfallsgeschwindigkeit. Erstaunlicherweise war diese trotz gleicher Operation unterschiedliche kardiale Veränderung bei keiner der voroperierten Gruppen zu beobachten.

Die männlichen TAC2-Tiere zeigten im Vergleich zu den weiblichen Tieren eine deutliche Tendenz zu höherem linksventrikulären diastolischen Druck sowie reduzierter Kontraktilität und Relaxation. Diese Beobachtungen waren jedoch nicht signifikant. Auch die Abnahme von Kontraktilität und Relaxation zwischen TAC1 und TAC2 war bei der Gruppe der männlichen Tiere stärker ausgeprägt als bei den weiblichen Tieren.

Die Gewichte von linkem Ventrikel, Gesamtherz und Lunge der Kontroll- und TAC-Tiere waren bei männlichen und weiblichen Tieren nicht signifikant unterschiedlich. Die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes in % nach TAC war aber interessanterweise bei den weiblichen Tieren in TAC1 und TAC2 signifikant stärker als bei den männlichen Tieren.

Diese ausgeprägtere Hypertrophie und tendenziell bessere Herzfunktion nach TAC bei den weiblichen Tieren ist eine Beobachtung, die auch in anderen Studien beschrieben wird. Neben den in der Einleitung beschriebenen geschlechtsspezifisch unterschiedlichen Umbildungsprozessen des Herzens beim Menschen, wurden auch in tierexperimentellen Studien vergleichbare Veränderungen festgestellt. Douglas und Mitarbeiter (Douglas et al., 1998) untersuchten bei Ratten die geschlechtsspezifische Entwicklung einer Druckbelastungshypertrophie zu verschiedenen Zeitpunkten. In dieser Studie war 6 Wochen nach Konstriktion der Aorta ascendens die Ausprägung der Herzhypertrophie und Veränderung der Herzfunktion bei beiden Geschlechtern statistisch nicht unterschiedlich. Die weiblichen Tiere zeigten jedoch eine tendenziell dickere linksventrikuläre Wand im Sinne einer konzentrischen Hypertrophie und einen geringeren linksventrikulären diastolischen Druck. Dies kann

im Sinne einer geringeren diastolischen Wandspannung (Vorlast) und dadurch einer geringeren Herzbelastung interpretiert werden. Nach 20 Wochen war nur bei den männlichen Tieren ein Übergang zum Herzversagen mit linksventrikulärer Dilatation und exzentrischem Umbau des linken Ventrikels festzustellen. Außerdem zeigten sich bei diesen Tieren ein Anstieg der systolischen Wandspannung und eine stärkere diastolische Dysfunktion.

In einer anderen Studie zeigten männliche SHHF-Ratten (spontan hypertensive Herzversagen-Ratten) in einem deutlich früheren Lebensalter Symptome des Herzversagens, verbunden mit einer deutlich höheren Mortalität, im Vergleich zu weiblichen Tieren. Auch hier entwickelten die weiblichen Tiere eine ausgeprägtere Herzhypertrophie und zeigten dadurch eine bessere systolische Herzfunktion als die männlichen Tiere (Tamura et al., 1999). Die geschlechtsspezifischen Unterschiede können auf eine größere hypertrophe Reserve des weiblichen Herzens zurückgeführt werden.

Weinberg und Mitarbeiter haben in ihren Studien beobachtet, dass 6 Wochen nach Aortenkonstriktion bei männlichen und weiblichen Ratten die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes bei beiden Geschlechtern gleich war. Am isolierten Herzen war die kalziumabhängige Kontraktionsreserve der männlichen Tiere aber sehr viel geringer als die der weiblichen Gruppe. Außerdem konnten die Autoren signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede in der Expression Hypertrophie-spezifischer Gene darstellen (Weinberg et al., 1999). In einer neueren Studie dieser Arbeitsgruppe konnten 30 Wochen nach TAC keine signifikanten Unterschiede in linksventrikulärem Gewicht und dem Parameter linksventrikuläres Gewicht / Körpergewicht zwischen männlichen und weiblichen FVB-Mäusen (Labormaus-Inzuchlinie) festgestellt werden. Die Zunahme der linksventrikulären Wanddicke war jedoch bei weiblichen Tieren schwach signifikant stärker. Die Autoren untersuchten in der Studie auch die Genexpression nach TAC und konnten hier geschlechtsspezifische Unterschiede feststellen. Die Gruppe fand zahlreiche Genexpressionsmuster mit Geschlechtsdimorphismus, die beim einen Geschlecht hoch- und beim anderen Geschlecht herunterreguliert werden (Weinberg et al., 2003).

Die erwähnten Studien unterstützen meine Beobachtung, dass sich bei weiblichen Tieren bei gleicher Druckbelastung des Herzens ein höherer Grad der

konzentrischen Hypertrophie entwickelt und diese zu einer besseren Erhaltung der Herzfunktion beiträgt.

Da die körperliche Entwicklung (Körpergewicht) der männlichen und weiblichen Tiere vor der Druckbelastungsoperation annähernd gleich war, ist anzunehmen, dass der Grad der Aortenkonstriktion durch TAC nach der beschriebenen Methode bei den beiden Gruppen identisch war. Dafür spricht weiterhin, dass der arterielle Druck im prästenotischen Bereich bei männlichen und weiblichen Tieren gleich hoch war. Die geschlechtsspezifischen Entwicklungen der Herzhypertrophie sind in meiner Arbeit also bei gleichem Grad der Druckbelastung entstanden.

Zu anderen Ergebnissen kamen Carbal und Kollegen in ihren Studien mit Barorezeptor-denervierten Ratten. Durch kardiale sympathische Überaktivität entwickelte sich bei diesen Tieren eine signifikante Erhöhung des mittleren arteriellen Blutdruckes, welche bei beiden Geschlechtern gleich ausgeprägt war. 15 Tage nach dem Eingriff zeigten nur die männlichen Tiere eine linksventrikuläre Hypertrophie (Cabral et al., 1988). In einer Studie von Wallen und Kollegen hatten weibliche normotensive und weibliche hypertensive Ratten ein niedrigeres Herzgewicht und niedrigeres Körpergewicht als die männliche Vergleichsgruppe. Trotzdem war bei den weiblichen Tieren der Parameter HW/BW immer signifikant höher als bei den männlichen Tieren. Bei den weiblichen spontan hypertensiven Ratten (SHR) war bei einem gegebenen diastolischen arteriellen Druck (als Nachlastparameter) immer eine signifikant höhere Herzgewicht-Körpergewicht-Ratio festzustellen als bei den männlichen Vergleichstieren (Wallen et al., 2000).

Das Körpergewicht als Bezugsparameter zu verwenden, erscheint, wie schon erwähnt, problematisch. Die Autoren argumentieren, dass es aber durchaus ein geschlechtsspezifischer Parameter sei, denn nach Bestimmung des Parameters Lebergewicht/Körpergewicht zeigten sich diese geschlechtsspezifischen Unterschiede nicht.

4.3 Der Einfluss von Testosteron auf die Entwicklung einer Druckbelastungs-Hypertrophie

Die Implantation von Testosteron-Release-Pellets in der gewählten Dosierung führte bei orchiectomierten Mäusen zu supraphysiologischen Serumspiegeln dieses Hormons. Auf diese Weise wurden drei verschiedene Hormonstadien untersucht: die Wirkungen von Testosteronentzug durch Orchiectomie, der physiologische Zustand bei intakten männlichen Tieren und die Wirkungen pharmakologischer Testosterongaben nach Orchiectomie.

4.3.1 Beeinflussung der Herz- und Lungenmorphologie

Der unterschiedliche Hormonstatus bei den Tieren dieser Studie war mit Veränderungen der Herzmorphologie assoziiert. Sowohl ohne als auch mit Druckbelastung hatten orchiectomierte männliche C57BL/6-Mäuse mit Testosteron-Übersubstitution und unbehandelte männliche Tiere ein signifikant höheres linksventrikuläres Gewicht und Herzgewicht als orchiectomierte männliche Tiere ohne Testosteron. Die Tiere mit supraphysiologischem Testosteron-Serumlevel hatten tendenziell ein etwas höheres Herzgewicht als die normalen Männchen, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Die Lungengewichte der orchiectomierten TAC-Tiere waren signifikant niedriger als die der orchiectomierten, mit Testosteron behandelten TAC-Tiere.

Die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes nach TAC war bei den kastrierten Tieren mit Testosteron-Substitution weniger ausgeprägt als bei den Tieren ohne Testosteron. Der Quotient LVW/TL war bei den orchiectomierten Tieren signifikant reduziert. Der Parameter LVW/BW war zwischen den kastrierten Tieren mit und ohne Testosteron nicht signifikant unterschiedlich, was sich durch die verschiedenen Entwicklungen des Körpergewichtes erklären lässt. Histologisch zeigte sich qualitativ kein Unterschied in der Stärke der entwickelten Myokardfibrose. Der klinische Zustand der Tiere war nach supraphysiologischen Testosteron-Dosen und Druckbelastung des Herzens schlecht, was eine hohe Mortalität, eine signifikante Gewichtsabnahme und eine ausgeprägte Stauungslunge deutlich machen.

Die beschriebenen morphologischen Veränderungen zeigen erstmalig, dass die Testosteron-Behandlung sowohl mit als auch ohne Druckbelastung des Herzens zur

linksventrikulären Hypertrophie führt. Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes durch Druckbelastung bei Testosteron-behandelten Tieren tendenziell etwas geringer ist als bei den Vergleichsgruppen. Testosteron wirkt also prohypertroph, aber nach Druckbelastung verstärkt sich diese Wirkung nicht zusätzlich. Diese neuen Beobachtungen sind evtl. durch die anabole Wirkung des Testosterons zu erklären, welche zu einer Verringerung der hypertrophen Reserve geführt haben könnte.

Die Beobachtungen der Entwicklung einer Herzhypertrophie durch Testosteron-Substitution stimmen mit den Untersuchungen von Marsh und Kollegen überein, welche *in vitro* zeigen konnten, dass Testosteron zur rezeptorspezifischen Hypertrophie von isolierten Ratten-Kardiomyozyten führt (Marsh et al., 1998). Auch die Arbeitsgruppe um Cabral hat Ähnliches in ihren Studien beobachtet. Bei Barorezeptor-denervierten orchiektomierten männlichen Ratten stellten sie nach 15 Tagen eine geringere linksventrikuläre Hypertrophie fest als bei intakten Männchen oder bei orchiektomierten Tieren mit Testosteron-Substitution. Alle Tiere hatten nach sinoaortaler Denervation eine arterielle Hypertonie entwickelt, welche aber bei unterschiedlichem Hormonstatus unbeeinflusst blieb (Cabral et al., 1988).

Um die Bedeutung verschiedener Signalwege zu untersuchen, welche bei der androgenvermittelten Beeinflussung der Herzhypertrophie eine Rolle spielen, hat die Arbeitsgruppe um Li unter anderem mit Mäusen gearbeitet, welche einen fehlenden Natriuretisches-Peptid-Rezeptor hatten (GCA-KO). Diese Tiere entwickeln durch den fehlenden Rezeptor eine ausgeprägte Hypertonie, kardiale Hypertrophie und kardiale Fibrose. Im Alter von 16 Wochen konnte hier bei männlichen Tieren eine signifikant ausgeprägtere Hypertrophie und Fibrose als bei weiblichen Tieren festgestellt werden. Neben den geschlechtsspezifischen Unterschieden konnten in diesem Modell nach Orchiektomie bzw. nach Testosteron-Infusion meinen Ergebnissen ähnliche Veränderungen festgestellt werden. Durch gezielte Ausschaltung eines Angiotensin-II-Rezeptors bei den GCA-KO-Mäusen konnte die Arbeitsgruppe eine Aufhebung der geschlechtsspezifischen Unterschiede erreichen. Auch Orchiektomie oder Testosteron-Infusion führte in diesem Double-Knockout-Modell zu keinem anderen kardialen Phänotyp, was zu der Annahme führt, dass die beiden beschriebenen Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der androgenvermittelten Herzhypertrophie und Fibrose spielen (Li et al., 2004).

Die Wirkungen von Testosteron bei C57BL/6-Mäusen mit und ohne Druckbelastung wurden in der Literatur bisher nicht beschrieben. Interessant ist nicht nur die Hypertrophieentwicklung sowohl mit als auch ohne Druckbelastung, sondern auch die Beobachtung, dass die hypertrophe Reserve als Antwort auf eine Druckbelastung nach Testosteron-Substitution tendenziell geringer ist als nach Testosteronentzug.

4.3.2 Beeinflussung der Herzfunktion

Hämodynamisch waren bei den drei zu vergleichenden Gruppen nur wenige Unterschiede zu erkennen. Der diastolische arterielle Blutdruck war bei den orchiektomierten Kontrolltieren mit Testosteron signifikant höher als bei denen ohne Testosteron. Dies könnte durch eine Zunahme des vaskulären Widerstandes nach chronischer Testosterongabe erklärt werden. Die übrigen arteriellen und linksventrikulären Druckwerte unterschieden sich kaum. Die Entwicklung der höhergradigen Herzhypertrophie bei den mit Testosteron behandelten TAC-Tieren war also nicht mit einer stärkeren Druckbelastung des Herzens assoziiert. Zu diesen Ergebnissen gelangen auch Cabral und Mitarbeiter, wie oben erwähnt.

Die gemessenen maximalen Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeiten nach TAC zeigten eine deutliche Tendenz zu geringerer Kontraktilität und Relaxation nach Testosterongabe, welche aber nicht signifikant war. Ein Grund für die tendenziell schlechtere Herzfunktion der Testosterontiere kann eine durch die hochgradige Hypertrophie und Fibrose schlechtere Sauerstoffversorgung des Herzmuskels sein. Die Arbeitsgruppe um Tagarakis hat herausgefunden, dass Testosteron die durch körperliche Belastung induzierte verstärkte Kapillarisation im Herz supprimiert. Untersucht wurden Kapillardichte und interkapillärer Abstand in Papillarmuskeln und linksventrikulärer Wand von unterschiedlich vorbehandelten Mäusen. Auch eine myozytäre Hypertrophie konnte nach Testosterongabe beobachtet werden (Tagarakis et al., 2000).

Der Untergang von Zellen könnte ebenfalls als eine Erklärung für die höhergradigen Funktionseinbußen des Herzens von Testosteron-behandelten Tieren nach Druckbelastung dienen. In einer Studie wurde gezeigt, dass Testosteron und anabolische androgene Steroide (AAS) die Apoptose von adulten Ratten-Kardiomyocyten in vitro induzieren (Zaugg et al., 2001).

Auch im Rahmen von anderen Umbildungsprozessen am Herzen in verschiedenen Tiermodellen wird die Veränderung der Herzfunktion nach Testosteronentzug bzw. Testosterongabe dargestellt. Studien von Remmers und Kollegen konnten zeigen, dass Testosteron eine wichtige Rolle bei Veränderungen der Herzfunktion nach traumatischer Blutung spielt. Nach Kastration sowie nach Androgenrezeptor-Blockade konnte bei männlichen Ratten im Anschluss an eine Volumenauffüllung eine bessere Herzfunktion beobachtet werden als bei nicht kastrierten Tieren. Als Parameter galten hier die maximale Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit (Remmers et al., 1998).

Cavasin und Kollegen konnten beobachten, dass bei männlichen Mäusen innerhalb einer Woche nach Myokardinfarkt (MI) die Mortalität und das Vorkommen einer Herz-Ruptur signifikant höher waren als bei weiblichen Mäusen. Außerdem beobachteten die Autoren bei kastrierten Tieren nach MI ein höheres Schlagvolumen des Herzens sowie eine geringere Dilatation des linken Ventrikels (Cavasin et al., 2003).

Die meisten neueren Studien sprechen jedoch von einem neutralen oder positiven Effekt von Testosteron auf koronare Herzkrankheiten. Bei männlichen adulten Wistar-Ratten konnte dargestellt werden, dass die Herzen der Testosteron-behandelten Tiere nach Koronarischämie und Reperfusion im Langendorff-Setup eine bessere Wiederherstellung der Kontraktionsfunktion zeigten als Placebo-behandelte und orchiectomierte Tiere (Callies et al., 2003). Nahrendorf und Kollegen stellten fest, dass bei Ratten mit Testosteron-Substitution acht Wochen nach Koronarinfarkt eine stärkere kardiale Hypertrophie sowie die Tendenz zu einer besseren hämodynamischen Funktion zu beobachten waren als bei Placebo-behandelten und bei orchiectomierten Tieren. Obwohl Infarktgröße und Mortalität bei allen Gruppen gleich waren, zeigten die Testosteron-behandelten Tiere einen verringerten LVEDP; andere Herzfunktionsparameter blieben aber unbeeinflusst (Nahrendorf et al., 2003).

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde postuliert, dass beim Menschen niedrigere Testosteronspiegel mit höherem Blutdruck, höherer linksventrikulärer Masse und Herzhypertrophie assoziiert sind. Nach Korrektur dieser Werte durch den Body mass index (BMI) wurde dieser Zusammenhang aber aufgehoben. Deshalb wird angenommen, dass die Wirkungen Obesitas-vermittelt sind (Svartberg et al., 2004).

Interessant war bei den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit auch die deutliche Involution der Thymuslappen bei allen Testosteron-behandelten Tieren. In der Literatur ist für diese Beobachtung eine Erklärung zu finden: Testosteron führt zur massiven Apoptose-Induktion von Thymuszellen bei kastrierten Mäusen in vivo (Olsen et al., 1998).

4.4 Der Einfluss der Androgenrezeptor-Antagonisten Cyproteronacetat und Flutamid auf die Entwicklung einer Druckbelastungs-Hypertrophie

Cyproteronacetat und Flutamid gehören beide zur Gruppe der Androgen-Rezeptor-Antagonisten.

4.4.1 Veränderungen nach Cyproteronacetat-Gabe

Cyproteronacetat gehört zu den Gestagenen und kompetitiert mit Dihydrotestosteron um den Androgenrezeptor. Durch die Progesteronwirkung kommt es zusätzlich zur Blockierung der Sekretion von Gonadotropinen. Die Arbeitsgruppe um Marsh hat herausgefunden, dass Cyproteronacetat die Testosteron-vermittelte Hypertrophie bei Ratten-Kardiomyozyten in vitro aufheben kann, und die Reaktion deshalb rezeptor-spezifisch ist (Marsh et al., 1998). Aufgrund dieser Veröffentlichung wurde die in meiner Studie verwendete Dosierung gewählt.

Ziel der Cyproteronacetat-Applikation bei einer Gruppe intakter männlicher Tiere war es, die Testosteronwirkung zu inhibieren. Erwartet haben wir nach dieser Androgenrezeptor-Blockade vergleichbare Veränderungen wie bei den orchiectomierten Tieren, nämlich eine verringerte Herzhypertrophie und eine Tendenz zu einer besseren Herzfunktion.

Die Ergebnisse waren jedoch völlig anders. Männliche intakte Mäuse mit Cyproteronacetat-Applikation und Druckbelastung hatten eine extrem hohe Mortalitätsrate. Diese kann vor allem durch eine frühzeitig entstandene, dekompensierte Herzinsuffizienz bei diesen Tieren erklärt werden. Alle überlebenden Tiere hatten eine massive Herzhypertrophie und Lungenstauung. Es lagen die höchsten Organgewichte und die stärkste linksventrikuläre Zunahme nach TAC von allen Gruppen der gesamten Arbeit vor. Die TAC2-Tiere dieser Gruppe hatten den höchsten LVDP der gesamten Arbeit. Erstaunlicherweise war dies nicht mit

verstärkten Einbussen von Kontraktilität und Relaxation assoziiert. Bei einer dekompensierten Herzinsuffizienz und der hohen Sterblichkeit ist erstaunlich, dass sich das Körpergewicht der überlebenden Tiere im Laufe der 14 Tage nach TAC kaum geändert hat.

Bei nicht druckbelasteten Tieren waren keine höheren Organgewichte als bei der entsprechenden Vergleichsgruppe ohne Cyproteronacetat-Applikation festzustellen. Die beschriebenen morphologischen Veränderungen treten also nur nach Druckbelastung auf. Die Kontrolltiere dieser Gruppe zeigten jedoch einen deutlich erhöhten diastolischen arteriellen Druckwert und einen erhöhten mittleren arteriellen Blutdruck im Vergleich zu den unbehandelten männlichen Tieren. Erstaunlicherweise lagen die gemessenen Testosteron-Serumspiegel im supraphysiologischen Bereich, vergleichbar mit den Werten nach Testosteron-Übersubstitution.

Studien zu kardialen Wirkungen von Cyproteronacetat bei Mäusen *in vivo* sind in der Literatur nicht zu finden. Die einzige Angabe über Wirkungen von Gestagenen auf das Herzgewicht ist bei Ratten beschrieben. Hier waren nach Progesterongabe bei kastrierten weiblichen Ratten keine Änderungen des Herzgewichtes zu beobachten. In dieser Studie wurde allerdings keine Druckbelastung des Herzens herbeigeführt (Scheuer et al., 1987). Beschreibungen über kardiale Wirkungen von Gestagenen nach Druckbelastung des Herzens sind in der Literatur nicht zu finden.

Eine Erklärung für die in meiner Studie beobachteten Wirkungen des Cyproteronacetats ist also schwer zu finden. Vermutlich sind die Wirkungen auf die Eigenschaften des Cyproteronacetats als Steroidhormon zurückzuführen.

4.4.2 Veränderungen nach Flutamid-Gabe

Flutamid ist ein nicht-steroidaler Androgen-Antagonist ohne agonistische Aktivität, welcher keine hormonelle Aktivität besitzt. *In vivo* erfolgt die Umwandlung in den aktiven Metaboliten 2-Hydroxyflutamid, welcher ein potenter kompetitiver Inhibitor der Bindung von Dihydrotestosteron zum AR ist (Wilson, 1994).

Auch nach Androgenrezeptor-Blockade mit Flutamid, also unter Ausschluss steroidaler Wirkungen, waren die Ergebnisse anders als erwartet. Flutamid-behandelte Tiere zeigten mit und ohne Druckbelastung keine verringerten Organgewichte im Vergleich zu intakten männlichen Tieren ohne Flutamid. Allerdings waren hier die Organgewichte auch nicht signifikant höher als bei den nicht

behandelten Tieren, wie es nach Cyproteronacetat-Substitution der Fall war. Die Zunahme der linksventrikulären Masse nach TAC war in etwa genauso stark wie bei den unbehandelten männlichen Tieren.

Die anderen Organparameter und die Hämodynamikwerte unterschieden sich kaum. Allerdings war auch hier bei den Kontrolltieren ein signifikant höherer diastolischer und mittlerer arterieller Druck im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren festzustellen. Ein deutlicher Unterschied zu den unbehandelten Tieren bestand außerdem darin, dass es keine Tiere mit entsprechenden Werten für die Bildung einer TAC1-Gruppe gab.

Die Flutamid-Dosierungen für Mäuse in vivo waren aus einer Veröffentlichung von Li und Mitarbeitern entnommen. Die Autoren konnten in ihrer Studie bei männlichen GCA-KO Mäusen die Hypertrophie durch Flutamid-Gabe in gleichem Maße verringern, wie durch Kastration (Li et al., 2004).

Auch in verschiedenen anderen Studien war eine Androgenrezeptor-Blockierung mit Flutamid erfolgreich. In einem Ratten-Modell wurden männliche Tiere mit überaktivem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (TGR(mREN2)27) untersucht, welche nach einigen Lebenswochen eine renale Hypertension entwickelten. Hier konnte der Grad der Hypertension durch Flutamid-Gabe verringert werden. Auch die sich entwickelnde Herzhypertrophie und Nierenschädigung wurde durch Flutamid-Gabe verringert, obwohl der SAP immer noch in Bereichen zwischen 185 und 190 mmHg lag. Bei Tieren ohne Flutamid-Behandlung lag er zwischen 200 und 210 mmHg. Außerdem beobachteten die Autoren nach Flutamid-Gabe einen starken reaktiven Anstieg der Serumspiegel von Testosteron (15-fach) und geringer von Östrogen (2-fach) (Baltatu et al., 2002). Dieser ist durch eine Blockierung des inhibitorischen Feedbacks von Testosteron auf die Hypophyse und die dadurch verstärkte hypophysäre LH-Abgabe zu erklären.

In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe wurden weibliche TGR(mREN2)27-Tiere mit Flutamid behandelt. Auch hier konnte Flutamid die entwickelte Hypertension und Endorganschädigung verringern, allerdings wurden die Plasmalevel von Testosteron, Östrogen und LH nicht beeinflusst (Baltatu et al., 2003).

In der vorliegenden Studie war aufgrund der nicht veränderten Organgewichte keine Blockierung der Testosteronwirkung zu beobachten. Ein weiterer Anhaltspunkt dafür, dass die Androgenrezeptor-Blockierung nicht oder nicht ausreichend funktioniert

hatte, war der ausbleibende reaktive Anstieg des Testosteronlevels im Serum der Mäuse.

Bei intakten männlichen C57BL/6-Mäusen scheint mit der gewählten Dosierung die Androgenrezeptor-Blockade in vivo nicht zu funktionieren.

4.5 Der Einfluss von Östrogen auf die Entwicklung einer Druckbelastungs-Hypertrophie

Durch die Implantation der in meiner Studie verwendeten Östrogen-Pellets wurde bei ovariectomierten Mäusen ein supraphysiologischer Serumlevel dieses Hormons erzeugt. Auf diese Weise konnten auch in der weiblichen Gruppe drei verschiedene Hormonstadien untersucht werden: die Wirkungen von Östrogenentzug durch Ovariectomie, der physiologische Zustand bei intakten weiblichen Tieren und die Wirkungen pharmakologischer Östrogengaben nach Ovariectomie.

4.5.1 Beeinflussung der Herz- und Lungenmorphologie

Bei den Kontrolltieren der drei Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf Organgewichte und Organparameter festzustellen.

Bei den ovariectomierten Tieren waren linksventrikuläres Gewicht, Herzgewicht und der Parameter linksventrikuläres Gewicht/Tibiallänge deutlich niedriger als bei den TAC2-Tieren der Gruppe w. Außerdem war die Zunahme des linksventrikulären Gewichtes bei den weiblichen intakten Tieren und bei den ovariectomierten Tieren mit Östrogen-Übersubstitution sehr viel höher als bei den Tieren ohne Östrogen. Das spricht dafür, dass die höhere hypertrophe Reserve bei weiblichen Tieren Östrogen-vermittelt ist.

Dies korreliert nicht mit den Ergebnissen, welche van Eickels und Kollegen nach ihren Studien darstellen konnten: Bei gleicher Druckbelastung war nach vier und acht Wochen bei mit Östrogen behandelten ovariectomierten C57BL/6-Mäusen eine signifikant geringere ventrikuläre Hypertrophie festzustellen als bei Placebo-behandelten Tieren. Bei den Kontrolltieren ohne Druckbelastung war aber wie in der vorliegenden Studie das ventrikuläre Gewicht nach Östrogen-Substitution unverändert (van Eickels et al., 2001). Unterschiede zwischen den beiden Studien bestehen zu einem darin, dass die Untersuchungen nach Druckbelastung mit Bestimmungen der Organgewichte zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt

wurden: in der vorliegenden Studie schon nach zwei Wochen, bei van Eickels und Kollegen nach vier und acht Wochen. Der zweite Unterschied ist, dass die in der vorliegenden Arbeit gewählte Dosierung von 17 β -Östradiol in den Release-Pellets doppelt so hoch ist (0,24 mg/kg/Tag) wie die von van Eickels und Kollegen gewählte Dosierung (0,12 mg/kg/Tag). Es wäre denkbar, dass die supraphysiologische Dosierung zu einer Aufhebung der kardioprotektiven Wirkung geführt hat. Das massiv erhöhte Uterusgewicht mit mukösem Uterusinhalt und die hohe Sterblichkeit der Tiere sprechen für eine negative Wirkung des Östrogens. Interessanterweise gibt es von den gleichen Autoren eine Infarktstudie bei Mäusen, in welcher Östrogenwirkungen gezeigt werden, die meinen Ergebnissen ähnlich sind. Trotz geringerer Infarktgröße zeigten die mit 17 β -Östradiol behandelten ovariectomierten Tiere in der Studie sechs Wochen post Infarkt eine deutlich stärkere Zunahme des linksventrikulären Gewichtes und eine sehr viel höhere Mortalität als die Placebo-behandelten Tiere. Die gewählte Östrogendosis betrug hier 0,16 mg/kg/Tag, liegt also zwischen den beiden erwähnten Dosierungen (van Eickels et al., 2003).

Die konträren Wirkungen von 17 β -Östradiol nach Myokardinfarkt können mit einer Abhängigkeit der Östrogenwirkung am Herzen vom jeweiligen Stimulus (Druckbelastung bzw. Myokardinfarkt) erklärt werden. Eine andere Erklärung könnte aber auch die Höhe der applizierten 17 β -Östradiol-Dosis sein. Die hohe Mortalität trotz geringeren Infarktes in van Eickels Studie und die noch höhere Mortalität in meiner Druckbelastungsstudie sprechen für eine negative Wirkung des Östrogens bei Verabreichung von supraphysiologischen Dosen.

Eine Studie von Wallen und Kollegen unterstützt meine Beobachtungen im Bezug auf Östrogenwirkungen am Herzen. In dieser schon erwähnten Studie wurde u. a. die Rolle von Östrogenen bei der Entwicklung einer kardialen Hypertrophie in weiblichen Wistar-Kyoto-Ratten (WKY) und spontan hypertensiven Ratten (SHR) untersucht. Durch Ovariectomie entwickelten die WKY-Tiere einen geringeren Parameter Herzgewicht/Körpergewicht, der durch Östrogengabe wieder erhöht wurde. Bei den SHR-Ratten gab es eine ähnliche Tendenz, welche aber nicht signifikant war. Ein höherer Grad an Hypertrophie bei weiblichen WKY- und SHR-Ratten soll also gemäß Wallen und Kollegen auf den Einfluss von Östrogen zurückgehen. Die Östrogenabgabe der Pellets betrug ca. 0,12 mg/kg pro Tag, was etwa der Hälfte der Dosierung in meiner Mausstudie entspricht (Wallen et al., 2000).

Eine noch nicht veröffentlichte Studie von Babiker und Kollegen zeigt, dass protektive Wirkungen von Östrogen nach Druckbelastung des Herzens über Östrogenrezeptor β vermittelt werden und nicht über Östrogenrezeptor α . Es wurde die Beeinflussung der Hypertrophieentwicklung nach Druckbelastung bei Östrogenrezeptor- α - (ERKO) und Östrogenrezeptor- β - (BERKO) -defizienten Mäusen untersucht. Zur Östrogen-Substitution wurde hier eine physiologische Dosis von 0,12 mg/kg/Tag gewählt. Die Messungen von Herzgewicht und -funktion erfolgten vier Wochen nach TAC. Östrogen reduzierte das hypertrophe Wachstum des Herzens nach TAC bei Wildtyp- und ERKO-Mäusen signifikant, während bei BERKO-Mäusen kein verringertes Herzgewicht festzustellen war. Die Herzfunktion war hier durch den unterschiedlichen Grad der Hypertrophie nicht beeinflusst (Babiker et al., 2004b).

4.5.2 Beeinflussung der Herzfunktion

Bei den TAC-Tieren aller drei Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede in arteriellem Druck und Ventrikeldruck zu erkennen. Bei den Kontrolltieren führte auffälliger Weise die Ovariectomie zu erhöhtem diastolischen Druck, sowohl arteriell als auch linksventrikulär. Bei den ovariectomierten Tieren mit Östrogen-Applikation war diese Entwicklung ebenfalls zu erkennen. Dies spricht für eine Beeinflussung der hämodynamischen Situation durch den Eingriff der Ovariectomie. Die Kontraktilität war bei den druckbelasteten ovariectomierten Tieren tendenziell besser erhalten als bei den druckbelasteten unbehandelten weiblichen Tieren, die Relaxation unterschied sich jedoch nicht. Leider konnte wegen der hohen Mortalität der Östrogen-behandelten Tiere und der deshalb geringen Anzahl der Messungen kein statistischer Vergleich mit den anderen Gruppen im Bezug auf die Herzfunktion erfolgen.

Durch die hämodynamischen Messungen ist zu erkennen, dass die unterschiedlichen Veränderungen der Organgewichte nach TAC der verschiedenen Gruppen nicht aufgrund einer unterschiedlichen Druckbelastung des Herzens entstanden sind.

4.6 Abschließende Betrachtung

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit wird ersichtlich, dass ein unterschiedlicher Sexualhormon-Status bei beiden Geschlechtern mit unterschiedlich ausgeprägten Adaptionsvorgängen des Herzens assoziiert ist.

Unbehandelte weibliche Tiere zeigten nach Druckbelastung gegenüber unbehandelten männlichen Tieren eine deutlich erhöhte hypertrophe Reserve mit tendenziell verbesserter Herzfunktion.

Es konnte in der Studie erstmals gezeigt werden, dass bei männlichen Mäusen durch Testosteronentzug eine Verringerung der linksventrikulären Masse mit tendenziell verbesserter Herzfunktion nach Druckbelastung erreicht werden kann. Durch Erzeugung eines supraphysiologischen Testosteron-Serumlevels hingegen entwickelte sich sowohl mit als auch ohne Druckbelastung eine Herzhypertrophie, welche im druckbelasteten Herzen mit einer interessanterweise geringeren hypertrophen Reserve und einer tendenziell schlechteren Herzfunktion assoziiert war. Diese Wirkungen von Testosteron im Herzen wurden bisher in der Literatur nicht beschrieben. Eine Aufhebung der androgenen Wirkung bei männlichen Tieren mittels Androgenrezeptor-Antagonisten war nicht erfolgreich, was vermutlich auf die gewählte Dosierung der Antagonisten zurückzuführen ist.

Bei weiblichen Tieren wurde durch Östrogenentzug eine deutliche Verringerung der hypertrophen Reaktion auf eine Druckbelastung des Herzens erreicht. Die höhere hypertrophe Reserve bei weiblichen Tieren scheint also Östrogen-vermittelt zu sein. Die Erzeugung eines supraphysiologischen Östrogen-Serumlevels führte bei diesen Tieren zu einer erhöhten linksventrikulären Hypertrophie mit massiv verschlechtertem Status des Gesamtorganismus.

Alle vorbehandelten Tiere waren außerdem unabhängig vom hormonellen Status zu 100 % in einer hämodynamisch verschlechterten Situation, die nicht vorbehandelten Tiere aber erstaunlicherweise jeweils nur zu 50 %.

Die vorliegenden Erkenntnisse sprechen dafür, dass auch unter dem Aspekt möglicher kardialer Auswirkungen ein Einsatz von Geschlechtshormonen bei verschiedensten Indikationen kritisch abzuwägen ist.

5 Zusammenfassung

Die Herzhypertrophie ist ein wichtiger prognostischer Faktor kardialer Erkrankungen, der geschlechtsspezifische Unterschiede aufweist. Die Ursachen für diese Unterschiede sind nicht vollständig geklärt. Zahlreiche Studien legen jedoch nahe, dass Sexualhormone eine wichtige Rolle in der Physiologie und Pathophysiologie des Herzens spielen. Die vorliegende Arbeit sollte zur Klärung der Rolle von Östrogenen und Androgenen im Bezug auf die Entwicklung und Progression der Herzhypertrophie beitragen, um einen Beitrag zum kardialen Nutzen-Risiko-Profil dieser Hormone zu leisten.

Zunächst wurden die geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Hypertrophieantwort nach Druckbelastung bei Mäusen mit Beurteilung der kardialen Funktion erfasst. Hierzu wurden neben morphologischen Untersuchungen auch hämodynamische Messungen mittels Herzkatheter durchgeführt. Zur Beurteilung wurden Parameter der Morphologie sowie der systolischen und diastolischen Funktion herangezogen.

In weiteren Studien wurden die Beeinflussung der beschriebenen Prozesse durch Testosteronentzug bzw. -Übersubstitution untersucht und schließlich die Veränderungen nach Androgenrezeptor-Blockade erfasst. Im letzten Teil der Arbeit wurden die Auswirkungen von Östrogenentzug bzw. -Substitution auf die morphologischen und funktionellen Veränderungen des Herzens nach Druckbelastung untersucht.

Bei der Erfassung geschlechtsspezifischer Unterschiede wurde deutlich, dass weibliche Mäuse bei gleicher Druckbelastung des Herzens eine stärkere hypertrophe Reaktion zeigten als männliche Mäuse, was mit einer tendenziell besseren Herzfunktion assoziiert war. Nach Testosteronentzug bei männlichen Tieren zeigte sich eine Verringerung der linksventrikulären Masse, die Hypertrophieantwort war jedoch unverändert. Nach der Erzeugung eines supraphysiologischen Testosteron-Serumspiegels war bei den Tieren eine deutliche Zunahme der linksventrikulären Masse zu beobachten. Nach Druckbelastung zeigten sich eine verminderte Hypertrophieantwort und eine tendenziell verschlechterte Herzfunktion. Die Aufhebung der Testosteronwirkung durch Androgenrezeptor-Blockade war nicht erfolgreich, was vermutlich an der Dosierung der Antagonisten lag. Bei den weiblichen Tieren führte der Östrogenentzug zu einer massiv verminderten

Hypertrophieantwort, die Gabe von hohen Dosen dieses Hormons jedoch zur verstärkten Hypertrophieantwort mit gleichzeitig massiver Verschlechterung des Allgemeinzustandes.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen für eine bessere kardiale Adaptionfähigkeit von weiblichen Tieren nach erhöhter Druckbelastung, welche anscheinend durch Östrogene vermittelt wird. Supraphysiologische Serumlevel von 17β -Östradiol haben aber offensichtlich negative Wirkungen auf den Gesamtorganismus. Androgene scheinen neben einer anabolen Wirkung auf den Herzmuskel auch negative Auswirkungen auf die Herzfunktion nach Druckbelastung zu haben.

Diese tierexperimentellen Befunde leisten einen Beitrag zur Erfassung der kardialen Wirkungen von Geschlechtshormonen unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen, dennoch sind viele Aspekte dieser komplexen Wirkungsweisen noch immer unklar.

6 Summary

Cardiac hypertrophy is an important prognostic factor for cardiac diseases, which displays sex-based differences. The reasons for these differences are not completely understood. Many studies suggest that sex hormones play an important role in concerning physiological and pathophysiological processes of the heart. The aim of the present work was to contribute to characterize the role of testosterone and estrogene relating in the development of cardiac diseases and to clarify the benefit-risk profile of these hormones.

First, sex-dependent differences in the adaptation of the murine heart in response to pressure overload were investigated. Therefore, morphological and hemodynamic measurements were performed.

In further studies, the influence of testosterone deprivation or substitution on the described processes was monitored. After that changes depending on androgen-receptor antagonism were recorded. In the final part of the work, the effects of estrogene deprivation or substitution on morphological and functional changes in response to pressure overload were documented.

It was shown that after the same degree of pressure overload the developed left ventricular hypertrophy was weaker in male hearts than in female hearts, associated with a tendency of better cardiac function. After testosterone deprivation, a distinct reduction of the left ventricular mass was seen in male mice, but the hypertrophic response after pressure overload was unchanged. After generating supraphysiological serum levels of testosterone, male animals showed a distinct increase of left ventricular mass. After pressure overload, a smaller left ventricular hypertrophic response and a tendency to a weakening of the heart function was shown. The abolition of the testosterone effects by androgen-receptor antagonism was not successful, probably due to the dose of the antagonists. In female mice hearts, estrogene deprivation led to a distinct reduction of the hypertrophic response. High serum levels of estrogene led to an increase of the hypertrophic response associated with a worsen constitution of the whole organism.

The findings of this work indicate better adaptation ability after pressure overload in female mice, apparently mediated by estrogene. Supraphysiological levels of estrogene seem to have negative effects on the whole organism. Androgens seem to

Summary

have anabolic effects on the myocardium and negative effects on cardiac function after pressure overload in male mice.

These animal-experimental findings may contribute to our understanding of the influence of sex hormones on cardiac development under physiological and pathophysiological conditions; however, many aspects remain still obscure.

7 Tabellenanhang

Hämodynamik-Tabellen

Gruppen 1 und 2:

	Kontrolle <i>m</i> (n = 13)	TAC1 <i>m</i> (n = 7)	TAC2 <i>m</i> (n = 9)	Kontrolle <i>w</i> (n = 14)	TAC1 <i>w</i> (n = 8)	TAC2 <i>w</i> (n = 9)
SAP (mmHg)	103,7± 7,3	159,5 ± 24,2	157,5 ± 17,6	100,6 ± 8,9	163,3 ± 25,1	160,1 ± 15,2
DAP (mmHg)	78,0 ± 7,5	77,1 ± 14,2	76,7 ± 6,7	76,4 ± 6,7	79,4 ± 15,0	74,9 ± 6,4
MABP (mmHg)	86,5 ± 7,2	104,3 ± 13,8	103,4 ± 9,5	84,4 ± 6,9	107,1 ± 11,8	103,0 ± 8,52
HR (b/min)	464,8 ± 39,1	524,5 ± 45,3	593,2 ± 32,3	470,9 ± 47,6	532,2 ± 61,0	581,3 ± 19,5
LVSP (mmHg)	104,4 ± 6,6	165, 8 ± 21,0	148,7 ± 18,6	101,6 ± 11,3	163,2 ± 20,7	155,7 ± 17,5
LVDP (mmHg)	0,8 ± 1,9	3,3 ± 6,0	25,9 ± 4,5	0,1 ± 4,3	4,2 ± 4,1	21,3 ± 7,0
+Dp/dt_{max} (mmHg/ sec)	9193,1 ± 1828,5	9494,2 ± 1491,8	7133,1 ± 1529,7	8979,3 ± 1599,0	8694,4 ± 1355,8	8024,3 ± 1533,3
-Dp/dt_{min} (mmHg/ sec)	-10572,6 ± 1677,9	-10531,0 ± 2735,6	-5708,8 ± 1140,0	-9599,3 ± 1099,5	-9471,9 ± 1010,9	-6732,8 ± 1830,0

Gruppen 3, 4 und 5:

	Kontrolle GE (n = 15)	TAC2 GE (n = 20)	Kontrolle GE+TP (n = 15)	TAC2 GE+TP (n = 11)	Kontrolle Cyp (n = 5)	TAC2 Cyp (n = 4)
SAP (mmHg)	96,2 ± 7,7	162,6 ± 15,8	101,7 ± 11,9	156,2 ± 22,4	117,5 ± 4,3	171,8 ± 6,1
DAP (mmHg)	67,9 ± 8,7	78,4 ± 7,7	78,7 ± 12,3	77,6 ± 5,4	94,3 ± 3,1	78,2 ± 4,9
MABP (mmHg)	77,3 ± 7,7	106,2 ± 9,2	86,3 ± 11,6	103,5 ± 10,7	101,9 ± 3,4	109,1 ± 1,3
HR (b/min)	461,1 ± 59,7	563,1 ± 50,8	474,9 ± 66,4	566,6 ± 25,6	473,7 ± 54,4	628,6 ± 35,4
LVSP (mmHg)	96,3 ± 6,8	159,9 ± 16,9	104,7 ± 11,7	151,5 ± 23,1	115,5 ± 3,1	165,7 ± 5,6
LVDP (mmHg)	0,4 ± 3,9	23,4 ± 7,1	3,5 ± 5,4	24,9 ± 5,4	9,4 ± 1,5	30,6 ± 5,5
+Dp/dt_{max} (mmHg/ sec)	8320,6 ± 1314,3	8632,7 ± 1184,6	9440,5 ± 2076,9	7842,3 ± 1615,9	8998,1 ± 1747,2	8604,7 ± 560,1
-Dp/dt_{min} (mmHg/ sec)	-9391,7 ± 1828,6	-7413,8 ± 1197,4	-9835,1 ± 2031,6	-6048,9 ± 1170,8	-9830,6 ± 2060,7	-7238,4 ± 1264,0

Gruppen 6, 7 und 8:

	<i>Kontrolle Flu (n = 8)</i>	<i>TAC2 Flu (n = 6)</i>	<i>Kontrolle OX (n = 6)</i>	<i>TAC2 OX (n = 7)</i>	<i>Kontrolle OX+Ö (n = 4)</i>	<i>TAC2 OX+Ö (n = 3 -</i>
SAP (mmHg)	108,8 ± 4,33	163,3 ± 19,2	110,9 ± 6,5	169,7 ± 14,5	113,1 ± 8,1	167,2 ± 0,2
DAP (mmHg)	87,8 ± 4,1	80,3 ± 8,7	90,6 ± 4,2	82,5 ± 10,0	90,4 ± 6,6	83,2 ± 7,9
MABP (mmHg)	94,7 ± 3,8	107,7 ± 9,9	97,3 ± 4,4	111,2 ± 10,6	97,9 ± 7,0	110,9 ± 5,4
HR (b/min)	506,0 ± 70,6	620,1 ± 66,4	463,8 ± 27,8	575,3 ± 24,8	516,8 ± 68,9	605,4
LVSP (mmHg)	106,4 ± 5,3	160,7 ± 21,8	109,5 ± 6,9	167,9 ± 13,2	113,9 ± 6,4	175,1
LVDP (mmHg)	7,7 ± 1,9	23,8 ± 10,4	9,1 ± 0,8	22,6 ± 5,8	10,7 ± 2,0	39,9
+Dp/dt_{max} (mmHg/ sec)	8475,7 ± 1592,8	8580,8 ± 1724,4	9265,5 ± 1054,5	9054,2 ± 1067,4	9653,8 ± 2539,6	8846,7
-Dp/dt_{min} (mmHg/ sec)	-9654,5 ± 1630,9	-6900,5 ± 1666,9	-9380,9 ± 529,5	-6794,5 ± 1131,8	-8678,9 ± 1963,5	-7854,3

Literaturverzeichnis

- Aurigemma GP and Gaasch WH (1995).** *Gender differences in older patients with pressure-overload hypertrophy of the left ventricle.* Cardiology 86: 310 - 317
- Babiker FA, De Windt LJ, van Eickels M, Thijssen V, Bronsaer RJ, Grohe C, van Bilsen M, Doevendans PA (2004a).** *17beta-estradiol antagonizes cardiomyocyte hypertrophy by autocrine/paracrine stimulation of a guanylyl cyclase A receptor-cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase pathway.* Circulation 109: 269 - 276
- Babiker FA, Lips DJ, Delvaux E, Zandberg P, Van Eys G, van Eickels M, Grohe C, Janssen BJ, Doevendans P (2004b).** *Estrogen receptor β protects the murine heart against pressure induced hypertrophy.* in Vorbereitung
- Baltatu O, Cayla C, Iliescu R, Andreev D, Bader M (2003).** *Abolition of end-organ damage by antiandrogen treatment in female hypertensive transgenic rats.* Hypertension 41: 830 - 833
- Baltatu O, Cayla C, Iliescu R, Andreev D, Jordan C, Bader M (2002).** *Abolition of hypertension-induced end-organ damage by androgen receptor blockade in transgenic rats harboring the mouse ren-2 gene.* J.Am.Soc.Nephrol. 13: 2681 - 2687
- Cabral AM, Vasquez EC, Moyses MR, Antonio A (1988).** *Sex hormone modulation of ventricular hypertrophy in sinoaortic denervated rats.* Hypertension 11: I93 - I97
- Callies F, Stromer H, Schwinger RH, Bolck B, Hu K, Frantz S, Leupold A, Beer S, Allolio B, Bonz AW (2003).** *Administration of testosterone is associated with a reduced susceptibility to myocardial ischemia.* Endocrinology 144: 4478 - 4483

- Carroll JD, Carroll EP, Feldman T, Ward DM, Lang RM, McGaughey D, Karp RB (1992).** *Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly.* Circulation 86: 1099 - 1107
- Cavasin MA, Sankey SS, Yu AL, Menon S, Yang XP (2003).** *Estrogen and testosterone have opposing effects on chronic cardiac remodeling and function in mice with myocardial infarction.* Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol 284: H1560 - H1569
- Ceballos G, Figueroa L, Rubio I, Gallo G, Garcia A, Martinez A, Yanez R, Perez J, Morato T, Chamorro G (1999).** *Acute and nongenomic effects of testosterone on isolated and perfused rat heart.* J.Cardiovasc.Pharmacol. 33: 691 - 697
- Costarella CE, Stallone JN, Rutecki GW, Whittier FC (1996).** *Testosterone causes direct relaxation of rat thoracic aorta.* J.Pharmacol.Exp.Ther. 277: 34 - 39
- Dannenberg AL, Levy D, Garrison RJ (1989).** *Impact of age on echocardiographic left ventricular mass in a healthy population (the Framingham Study).* Am.J.Cardiol. 64: 1066 - 1068
- de Simone G, Devereux RB, Daniels SR, Meyer RA (1995).** *Gender differences in left ventricular growth.* Hypertension 26: 979 - 983
- de Simone G, Palmieri V, Koren MJ, Mensah GA, Roman MJ, Devereux RB (2001).** *Prognostic implications of the compensatory nature of left ventricular mass in arterial hypertension.* J.Hypertens. 19: 119 - 125
- Doevendans PA, Daemen MJ, de Muinck ED, Smits JF (1998).** *Cardiovascular phenotyping in mice.* Cardiovasc.Res. 39: 34 - 49
- Douglas PS, Katz SE, Weinberg EO, Chen MH, Bishop SP, Lorell BH (1998).** *Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to left ventricular pressure overload.* J.Am.Coll.Cardiol. 32: 1118 - 1125

- Dubey RK, Gillespie DG, Jackson EK, Keller PJ (1998).** *17Beta-estradiol, its metabolites, and progesterone inhibit cardiac fibroblast growth.* Hypertension 31: 522 - 528
- Fard A, Wang CY, Takuma S, Skopicki HA, Pinsky DJ, Di Tullio MR, Homma S (2000).** *Noninvasive assessment and necropsy validation of changes in left ventricular mass in ascending aortic banded mice.* J.Am.Soc.Echocardiogr. 13: 582 - 587
- Fata JE, Chaudhary V, Khokha R (2001).** *Cellular turnover in the mammary gland is correlated with systemic levels of progesterone and not 17beta-estradiol during the estrous cycle.* Biol.Reprod. 65: 680 - 688
- Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K (1998).** *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.* 381 - 385
- Grohe C, Kahlert S, Lobbert K, Stimpel M, Karas RH, Vetter H, Neyses L (1997).** *Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors.* FEBS Lett. 416: 107 - 112
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC (2002).** *Production and actions of estrogens.* N.Engl.J.Med. 346: 340 - 352
- Haider AW, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D (1998).** *Increased left ventricular mass and hypertrophy are associated with increased risk for sudden death.* J.Am.Coll.Cardiol. 32: 1454 - 1459
- Hayward CS, Kelly RP, Collins P (2000).** *The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function.* Cardiovasc.Res. 46: 28 - 49
- Hayward CS, Webb CM, Collins P (2001).** *Effect of sex hormones on cardiac mass.* Lancet 357: 1354 - 1356
- Hierholzer K and Schmidt RF (1991).** *Pathophysiologie des Menschen.* 16.4 - 16.10

- Hu P, Zhang D, Swenson L, Chakrabarti G, Abel ED, Litwin SE (2003).** *Minimally invasive aortic banding in mice: effects of altered cardiomyocyte insulin signaling during pressure overload.* Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol 285: H1261 - H1269
- Hunter JJ and Chien KR (1999).** *Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure.* N.Engl.J.Med. 341: 1276 - 1283
- Krumholz HM, Larson M, Levy D (1993).** *Sex differences in cardiac adaptation to isolated systolic hypertension.* Am.J.Cardiol. 72: 310 - 313
- Laughlin GA, Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D, von Muhlen D (2000).** *Hysterectomy, oophorectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: the Rancho Bernardo Study.* J.Clin.Endocrinol.Metab 85: 645 - 651
- Li Y, Kishimoto I, Saito Y, Harada M, Kuwahara K, Izumi T, Hamanaka I, Takahashi N, Kawakami R, Tanimoto K, Nakagawa Y, Nakanishi M, Adachi Y, Garbers DL, Fukamizu A, Nakao K (2004).** *Androgen contributes to gender-related cardiac hypertrophy and fibrosis in mice lacking the gene encoding guanylyl cyclase-A.* Endocrinology 145: 951 - 958
- Li YH, Reddy AK, Taffet GE, Michael LH, Entman ML, Hartley CJ (2003).** *Doppler evaluation of peripheral vascular adaptations to transverse aortic banding in mice.* Ultrasound Med.Biol. 29: 1281 - 1289
- Liao Y, Ishikura F, Beppu S, Asakura M, Takashima S, Asanuma H, Sanada S, Kim J, Ogita H, Kuzuya T, Node K, Kitakaze M, Hori M (2002).** *Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation.* Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol 282: H1703 - H1708
- Lim WK, Wren B, Jepson N, Roy S, Caplan G (1999).** *Effect of hormone replacement therapy on left ventricular hypertrophy.* Am.J.Cardiol. 83: 1132 - 4, A9

- Lin AL, Gonzalez R, Jr., Shain SA (1985).** *Androgen directs apparent cytoplasmic and nuclear distribution of rat cardiovascular androgen receptors.* Arteriosclerosis 5: 659 - 667
- Lin AL, Schultz JJ, Brenner RM, Shain SA (1990).** *Sexual dimorphism characterizes baboon myocardial androgen receptors but not myocardial estrogen and progesterone receptors.* J.Steroid Biochem.Mol.Biol. 37: 85 - 95
- Lorenz JN and Robbins J (1997).** *Measurement of intraventricular pressure and cardiac performance in the intact closed-chest anesthetized mouse.* Am.J.Physiol 272: H1137 - H1146
- Marano G, Palazzesi S, Vergari A, Catalano L, Gaudi S, Testa C, Canese R, Carpinelli G, Podo F, Ferrari AU (2003).** *Inhibition of left ventricular remodelling preserves chamber systolic function in pressure-overloaded mice.* Pflugers Arch. 446: 429 - 436
- Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, Gwathmey JK, Green GE, Schiebinger RJ (1998).** *Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes.* Circulation 98: 256 - 261
- McGill HC, Jr. (1989).** *Sex steroid hormone receptors in the cardiovascular system.* Postgrad.Med. Spec No: 64 - 68
- McGill HC, Jr., Anselmo VC, Buchanan JM, Sheridan PJ (1980).** *The heart is a target organ for androgen.* Science 207: 775 - 777
- Mendelsohn ME and Karas RH (1999).** *The protective effects of estrogen on the cardiovascular system.* N.Engl.J.Med. 340: 1801 - 1811
- Meyer R, Linz KW, Surges R, Meinardus S, Veas J, Hoffmann A, Windholz O, Grohe C (1998).** *Rapid modulation of L-type calcium current by acutely applied oestrogens in isolated cardiac myocytes from human, guinea-pig and rat.* Exp.Physiol 83: 305 - 321

- Nahrendorf M, Frantz S, Hu K, von zur MC, Tomaszewski M, Scheuermann H, Kaiser R, Jazbutyte V, Beer S, Bauer W, Neubauer S, Ertl G, Allolio B, Callies F (2003).** *Effect of testosterone on post-myocardial infarction remodeling and function.* Cardiovasc.Res. 57: 370 - 378
- Nakamura A, Rokosh DG, Paccanaro M, Yee RR, Simpson PC, Grossman W, Foster E (2001).** *LV systolic performance improves with development of hypertrophy after transverse aortic constriction in mice.* Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol 281: H1104 - H1112
- Nelson JF, Latham KR, Finch CE (1975).** *Plasma testosterone levels in C57BL/6J male mice: effects of age and disease.* Acta Endocrinol.(Copenh) 80: 744 - 752
- Nichols CG, Hanck DA, Jewell BR (1988).** *The Anrep effect: an intrinsic myocardial mechanism.* Can.J.Physiol Pharmacol. 66: 924 - 929
- Olivetti G, Giordano G, Corradi D, Melissari M, Lagrasta C, Gambert SR, Anversa P (1995).** *Gender differences and aging: effects on the human heart.* J.Am.Coll.Cardiol. 26: 1068 - 1079
- Olsen NJ, Viselli SM, Fan J, Kovacs WJ (1998).** *Androgens accelerate thymocyte apoptosis.* Endocrinology 139: 748 - 752
- Reckelhoff JF (2001).** *Gender differences in the regulation of blood pressure.* Hypertension 37: 1199 - 1208
- Remmers DE, Cioffi WG, Bland KI, Wang P, Angele MK, Chaudry IH (1998).** *Testosterone: the crucial hormone responsible for depressing myocardial function in males after trauma-hemorrhage.* Ann.Surg. 227: 790 - 799
- Rockman H, Knowlton KU, Ross J, Jr., Chien KR (1993).** *In vivo murine cardiac hypertrophy - a novel model to identify genetic signaling mechanisms that activate an adaptive physiological response.* Circulation 87: 14 - 21

- Scheuer J, Malhotra A, Schaible TF, Capasso J (1987).** *Effects of gonadectomy and hormonal replacement on rat hearts.* Circ.Res. 61: 12 - 19
- Schillaci G, Verdecchia P, Porcellati C, Cuccurullo O, Cosco C, Perticone F (2000).** *Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension.* Hypertension 35: 580 - 586
- Sluijmer AV, Heineman MJ, De Jong FH, Evers JL (1995).** *Endocrine activity of the postmenopausal ovary: the effects of pituitary down-regulation and oophorectomy.* J.Clin.Endocrinol.Metab 80: 2163 - 2167
- Svartberg J, von Muhlen D, Schirmer H, Barrett-Connor E, Sundfjord J, Jorde R (2004).** *Association of endogenous testosterone with blood pressure and left ventricular mass in men. The Tromso Study.* Eur.J.Endocrinol. 150: 65 - 71
- Tagarakis CV, Bloch W, Hartmann G, Hollmann W, Addicks K (2000).** *Testosterone-propionate impairs the response of the cardiac capillary bed to exercise.* Med.Sci.Sports Exerc. 32: 946 - 953
- Takaoka H, Esposito G, Mao L, Suga H, Rockman HA (2002).** *Heart size-independent analysis of myocardial function in murine pressure overload hypertrophy.* Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol 282: H2190 - H2197
- Tamura T, Said S, Gerdes AM (1999).** *Gender-related differences in myocyte remodeling in progression to heart failure.* Hypertension 33: 676 - 680
- Thews G, Mutschler E, Vaupel P (1989).** *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen.* 151 - 164
- Thews G and Vaupel P (1997).** *Vegetative Physiologie.* 127 - 133
- Thum T and Borlak J (2002).** *Testosterone, cytochrome P450, and cardiac hypertrophy.* FASEB J. 16: 1537 - 1549

- Tiemann K, Weyer D, Djoufack PC, Ghanem A, Lewalter T, Dreiner U, Meyer R, Grohe C, Fink KB (2003).** *Increasing myocardial contraction and blood pressure in C57BL/6 mice during early postnatal development.* Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol 284: H464 - H474
- van Eickels M, Grohe C, Cleutjens JP, Janssen BJ, Wellens HJ, Doevendans PA (2001).** *17beta-estradiol attenuates the development of pressure-overload hypertrophy.* Circulation 104: 1419 - 1423
- van Eickels M, Patten RD, Aronovitz MJ, Alsheikh-Ali A, Gostyla K, Celestin F, Grohe C, Mendelsohn ME, Karas RH (2003).** *17-beta-estradiol increases cardiac remodeling and mortality in mice with myocardial infarction.* J.Am.Coll.Cardiol. 41: 2084 - 2092
- Villari B, Campbell SE, Schneider J, Vassalli G, Chiariello M, Hess OM (1995).** *Sex-dependent differences in left ventricular function and structure in chronic pressure overload.* Eur.Heart J. 16: 1410 - 1419
- Wallen WJ, Cserti C, Belanger MP, Wittnich C (2000).** *Gender-differences in myocardial adaptation to afterload in normotensive and hypertensive rats.* Hypertension 36: 774 - 779
- Walston A, Rembert JC, Fedor JM, Greenfield JC, Jr. (1978).** *Regional myocardial blood flow after sudden aortic constriction in awake dogs.* Circ.Res. 42: 419 - 425
- Weinberg EO, Mirotsoy M, Gannon J, Dzau VJ, Lee RT, Pratt RE (2003).** *Sex dependence and temporal dependence of the left ventricular genomic response to pressure overload.* Physiol Genomics 12: 113 - 127
- Weinberg EO, Thienelt CD, Katz SE, Bartunek J, Tajima M, Rohrbach S, Douglas PS, Lorell BH (1999).** *Gender differences in molecular remodeling in pressure overload hypertrophy.* J.Am.Coll.Cardiol. 34: 264 - 273

Wilson JD (1994). *Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics, Chapter 58: Androgens.* 1441 - 1455

Zaugg M, Jamali NZ, Lucchinetti E, Xu W, Alam M, Shafiq SA, Siddiqui MA (2001). *Anabolic-androgenic steroids induce apoptotic cell death in adult rat ventricular myocytes.* J.Cell Physiol 187: 90 - 95

8 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Rainer Meyer (Physiologisches Institut II der Universität Bonn) und Herrn Prof. Dr. Christian Grohé (Medizinische Poliklinik der Universität Bonn) für die Ermöglichung dieser Arbeit, die Überlassung des Themas sowie für die überaus freundliche und engagierte Betreuung und Unterstützung in allen Phasen der Entstehung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Martin Diener für die freundliche und unkomplizierte Betreuung am Fachbereich Veterinärmedizin und für die Begutachtung dieser Dissertation.

Herrn Dr. Martin van Eickels (Sanofi-Aventis-Gruppe) für die ausgezeichnete Unterstützung bei allen Fragen zur Versuchsdurchführung.

Frau Andrea Christ (Pathologisches Institut der Universität Bonn) für die Hilfe bei der Anfertigung der histologischen Schnitte.

Frau Gisa Briesemeister und Frau Angela Becker (Medizinische Poliklinik der Universität Bonn) für die Bestimmung der 17 β -Östradiol- und Testosteron-Spiegel.

Meiner gesamten Arbeitsgruppe für die wunderbare Zeit in Bonn und die effektive und überaus bereichernde Zusammenarbeit.

Meiner lieben Schwägerin Kathrin Bittig für die professionelle Korrektur des Manuskripts.

Danken möchte ich von Herzen auch meinen Eltern, die mich während meiner gesamten Ausbildung stets bedingungslos unterstützt haben und mir in jeder Hinsicht fürsorglich zur Seite standen.

Nicht zuletzt gilt mein herzlicher Dank Markus, der mich in den letzten Jahren in allen Lebenslagen liebevoll unterstützt hat.

9 Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt ist, eingehalten.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
GLEIBERGER WEG 4
D-35435 WETTENBERG

Tel: +49-(0)6406-4413 Fax: -72757
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-89687-428-4



9 783896 874283